

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année Scolaire 1954-1955. — N° 21

Contribution à l'étude
de l'électrophorèse sur papier des sérums animaux

Contrôle par l'électrophorèse des résultats obtenus à l'aide des méthodes de sérologie non spécifique

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 29 Mars 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

René PANISSET

Né le 23 Mars 1929, à LYON (Rhône)



LYON

BOÏC Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

CONTROLE PAR L'ELECTROPHORESE
DES RESULTATS OBTENUS A L'AIDE
DES METHODES DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année Scolaire 1954-1955. — N° 21

Contribution à l'étude
de l'électrophorèse sur papier des sérums animaux

Contrôle par l'électrophorèse des résultats obtenus à l'aide des méthodes de sérologie non spécifique

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 29 Mars 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

René PANISSET

Né le 23 Mars 1929, à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur. M. JUNG.

Professeurs honoraires } BASSET.
DOUVILLE.
CUNY.

PROFESSEURS

Physique, Chimie et Toxicologie, Pharmacie, Hygiène du lait	MM. TAPERNOUX
Anatomie descriptive des animaux domestiques. Tératologie.	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médicale.	JUNG.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des viandes	LUCAM.
Parasitologie et Maladies parasitaires, Zoologie appliquée, Botanique, Clinique des maladies parasitaires.	EUZEBY.
Pathologie chirurgicale, Médecine opératoire et Ferrure, Sémiologie, Clinique chirurgicale..	COLLET.
Pathologie médicale des Equidés et des Carnassiers, Sémiologie et Propédeutique, Jurisprudence vétérinaire, Médecine légale, Clinique médicale.	BRION.
Pathologie de la Reproduction, Sémiologie et Pathologie de la reproduction chez les animaux domestiques, Obstétrique, Clinique	BERTRAND.
Maladies microbiennes, Police sanitaire, Microbiologie et pathologie générale, Clinique spéciale.	GORET.
Zootechnie et appréciation des animaux domestiques, aliments du bétail, agronomie et hygiène des animaux, économie rurale	JEAN-BLAIN.

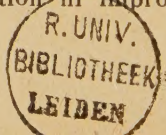
CHEFS DE TRAVAUX

MM. BARONE, FERRANDO, JOUBERT, BOST, MAGAT, Agrégés
MM. COULON, FERNEY, FLACHAT, COTTEREAU.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. le Professeur SÉDALLIAN.
Premier Assesseur : M. le Professeur GORET.
Deuxième Assesseur : M. le Professeur TAPERNOUX.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.



A MES PARENTS

Puissent-ils trouver dans ce travail
un modeste témoignage de mon affection
et de ma reconnaissance.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SEDALLIAN
de la Faculté de Médecine de Lyon

Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence du jury de
notre thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORET
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Avec l'expression de notre respec-
tueuse reconnaissance pour la bien-
veillance et la sollicitude qu'il a tou-
jours montrées à notre égard.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR TAPERNOUX
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui a bien voulu accepter de juger
notre travail.

A MONSIEUR LE DOCTEUR JOUBERT
Chef de travaux, Agrégé des Ecoles Vétérinaires

Qui nous a inspiré notre sujet de
thèse. Avec l'expression de notre res-
pectueuse gratitude pour l'aide inlas-
sable et les conseils qu'il nous a cons-
tamment apportés dans l'élaboration
de ce travail.

A TOUS NOS MAÎTRES DE L'ECOLE NATIONALE
VÉTÉRINAIRE DE LYON

A MONSIEUR BARRAT

En reconnaissance du travail que nous lui avons donné pour l'établissement et la lecture des électrophorégrammes. Sincères remerciements.

INTRODUCTION

La clinique moderne accorde de plus en plus d'importance à l'exploration sanguine. On peut classer les examens pratiqués sur le sang en trois catégories distinctes :

1° *Les examens cytologiques*, portant sur les éléments figurés du sang, et pour une part la sédimentation, celle-ci étant fonction non seulement des cellules sanguines mais aussi des qualités du plasma.

2° *Les examens des cristaalloïdes*, tels le dosage des différents sels sanguins.

3° *Les examens portant sur les colloïdes*. Ce sont ceux qui intéressent notre étude, et spécialement les moyens d'exploration de ces colloïdes.

Il convient de souligner que ces trois secteurs sanguins obéissent à la même loi de constance du milieu.

Une certaine partie des protéines plasmatiques constitue les anticorps spécifiques, détectables par l'ensemble des méthodes constituant la *sérologie spécifique*. Ces protéines anticorps reflètent l'empreinte d'un agent ou groupe d'agents déterminés dits « antigéniques ». Mais à côté de ces modifications il en existe d'autres communes à plusieurs entités morbides n'ayant souvent que peu de caractères communs. Ces modifications sont décelables par la *sérologie non spécifique*.

Notre condisciple R. Mical [26] qui pendant deux années de scolarité a fait équipe avec nous, a exposé les résultats obtenus par les méthodes de sérologie non spécifique avec des sérums d'animaux sains, malades et

hyperimmunisés. Nous nous sommes proposé de compléter et si possible contrôler et vérifier les résultats par la *méthode électrophorétique* sur papier.

Notre étude comprendra quatre parties :

1° Dans la première nous étudierons sommairement la *constitution des colloïdes protéiniques* et nous passerons en revue les différentes méthodes, chimiques et physiques d'analyse du plasma et du sérum.

2° Dans la deuxième, nous étudierons les *principes et les techniques de l'électrophorèse* en général et l'appareillage employé (électrophorèse sur papier, Appareil de M. Barrat).

3° Dans la troisième partie nous présenterons les *résultats obtenus en pathologie et en immunologie animale*.

4° Dans la quatrième partie ces *résultats seront discutés et interprétés* comparativement aux résultats de R. Mical.

Il nous faut remercier Monsieur le Professeur Goret et Monsieur l'Agrégé Joubert qui après nous avoir inspiré cette étude nous a constamment guidé et conseillé dans ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur Barrat (Laboratoire Biolyon, Directeur M. le Docteur Joud) qui après nous avoir exposé la technique qu'il a mise au point, a exécuté les électrophorégrammes présentés et nous a permis d'exécuter les courbes et les pourcentages des différents constituants à l'aide du lecteur de bande qu'il a créé.

PREMIERE PARTIE

**LES CONSTITUANTS NORMAUX COLLOIDAUX
DU SERUM ET DU PLASMA
METHODES DE RECHERCHE**

CHAPITRE PREMIER

PROTEINES PLASMATIQUES ET SERIQUES

GÉNÉRALITÉS SUR LES COLLOÏDES.

Les rapports de taille entre les molécules d'un solvant et les molécules du corps en solution déterminent trois types de solutions. Il est à noter que la dimension d'une molécule d'eau est de quelques Angströms :

$$1 \text{ \AA} \rightleftharpoons 0,1 \text{ m}\mu = 10^{-8} \text{ cm.}$$

— *Solutions vraies* : La taille des molécules de la matière est du même ordre de grandeur que celle des molécules d'eau.

— *Solutions colloïdales* : Les particules du corps dissous sont plus grandes que celles du solvant, de l'ordre de 30 Angströms.

— *Suspensions* : Les particules du corps dissous sont de l'ordre de 3.000 Å. Ce n'est plus alors une solution proprement dite. Les propriétés caractéristiques de celle-ci disparaissent.

Deux types fondamentaux de colloïdes existent : les *suspensoides* et les *émulsoïdes*, suivant qu'il existe ou non de liaison entre le colloïde et le solvant.

— Les *suspensoides* sont des colloïdes lyophobes, les principaux sont de type minéral, tels les métaux comme l'or ou l'argent.

— Les *émulsoïdes* sont des colloïdes lyophiles. Il existe des liaisons directes entre les particules et le solvant, celles-ci étant entourées d'une couche d'eau fixée par des liaisons hydrogène. Il en résulte que la viscosité des *émulsoïdes* est plus grande que celle des *suspensoides*.

Les colloïdes peuvent exister sous deux formes :

Les *hydrosols* et les *hydrogels*.

Dans un *hydrosol* les particules sont noyées dans le reste du solvant.

Dans un *hydrogel* il y a élimination du solvant. Il ne reste plus alors que l'eau associée directement à la micelle. Nous pouvons écrire l'équation réversible suivante : *hydrosol* $\rightleftharpoons$ *hydrogel*.

Nous ne nous occuperons ici exclusivement que des *hydrosols*.

STABILITÉ DES HYDROSOLS.

Nous étudierons tout d'abord le cas des *suspensoides* puis celui des *émulsoïdes*.

1. *Suspensoides* : On pensait que toute micelle colloïdale était chargée d'électricité soit positivement, soit négativement. Or expérimentalement les *hydrosols* se montrent incapables de décharger l'électroscope, on peut donc en conclure que le mélange est neutre. C'est Helmholtz qui en 1879 proposa une hypothèse expliquant ce fait : il

suppose que chaque micelle possède deux couches concentriques de charges contraires (fig. 1).

Il est à remarquer que c'est la charge qui se trouve à la surface de la micelle qui détermine le sens de la migration électrophorétique. La stabilité de la micelle exige que des charges électriques soient constamment présentes dans la double couronne ; il faut donc que des ions se trouvent dans la solution.

On constate que la concentration d'ions à la surface de la particule dépend de la concentration d'ions de la solution.

La loi de Freundlich relie, pour une température don-

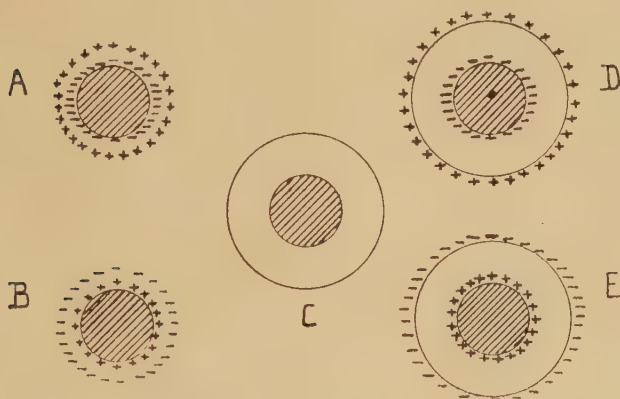


FIG. 1 et 2

Représentation schématique de la micelle protidique entourée d'une double couche électrisée de signe inverse différemment disposée à la périphérie micellique (A et B), d'une couronne d'eau liée (C), enfin simultanément, d'une double couche électrisée disposée à la périphérie de la micelle et de la couronne d'eau liée (D et E).

née, le nombre des ions adsorbés à la surface de la micelle, à la concentration en ions de la solution : la vitesse de transport des particules, pour un champ donné varie avec la concentration en électrolytes ou potentiel électrocinétique des micelles.

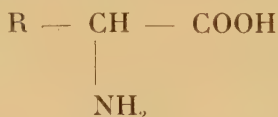
Ce potentiel électrocinétique dépend lui-même des char-

ges électriques et de la distance qui sépare les deux couronnes.

2. *Emulsoïdes* : Les colloïdes qui constituent la matière vivante sont de ce type. Les émuloïdes présentent par rapport aux suspensoïdes une stabilité supplémentaire due à la présence de la couche d'eau. Leurs hydrosols deviennent plus sensibles à l'action des électrolytes après action de l'alcool, substance très hydrophile. L'émulsoïde après perte de la couche d'eau se comporte comme un suspensoïde (fig. 2).

CONSTITUTION DES PROTÉINES.

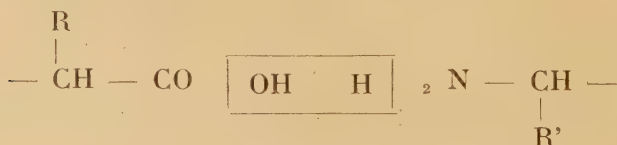
Par hydrolyse les protéines se scindent en acides aminés qui ont pour type le schéma suivant :



Il existe une variété presque infinie de protéines malgré le nombre relativement restreint d'acides aminés : vingt environ.

Les dimensions des protéines sont considérables, leur poids moléculaire varie de 8.000 à plusieurs millions. Les protéines présentent les caractères des émuloïdes : viscosité élevée, précipitation par les sels neutres : ClNa , SO_4Na_2 , $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$, précipitation par l'alcool qui les déshydrate.

La liaison entre les différents acides aminés constituant une protéine se fait par élimination d'une molécule d'eau entre l'hydroxyle du groupement carboxyle de l'un et l'H du groupement aminé de l'autre.



Les protéines présentent deux sortes de groupements polaires :

— NH_2 :

Groupement aminé.

— COOH :

Groupement acide.

Suivant le pH de la solution les réactions suivantes se produisent :



La micelle protéinique sera donc hérissée d'ions NH_3^+ et d'ions COO— . L'influence du pH se manifeste sur la dissociation des ions amines ou carboxyles. En effet selon la loi d'action de masse nous avons :

$$\frac{\text{NH}_2 \text{ H}^+}{\text{NH}_3} = \text{K} \quad \text{et} \quad \frac{\text{COO—} \text{ H}^+}{\text{COOH}} = \text{K}'$$

K et K' étant des constantes.

Si le pH diminue H^+ augmente

NH_2 diminue ou NH_3 augmente

COO— diminue ou COOH augmente.

Si le pH augmente H^+ diminue

NH_2 augmente ou NH_3 diminue

COO— augmente ou COOH diminue.

Entre les pH extrêmes, il existe un pH intermédiaire où les charges de micelles s'annulent : ce pH constitue le *point isoélectrique* propre à chaque protéine. A ce point il y a une dissociation égale des groupements carboxyles et amines. La charge électrique globale de la micelle est alors nulle. La micelle ne possède qu'une simple couche

d'eau protectrice facilement arrachable par l'alcool qui précipite la protéine. Ces faits sont résumés dans le tableau suivant (fig. 3).

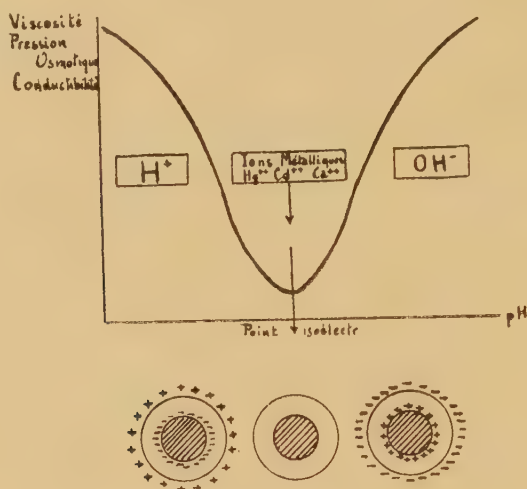
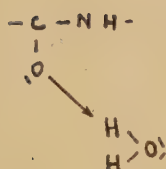
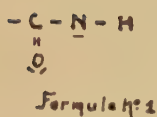


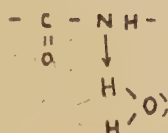
FIG. 3

ASSOCIATION D'UNE COUCHE D'EAU A LA SURFACE DE LA MICELLE PROTÉINIQUE.

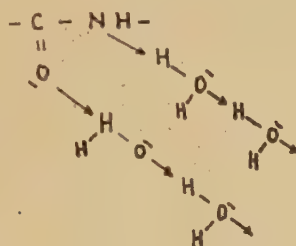
Les acides aminés constitutifs des protéines possèdent des liaisons peptidiques ou $/O/$ et $/N$ portent des doublets libres [Fig. 1 (1)] capables de porter des liaisons H de l'eau [Fig. 4 (2) et (3)]. Il faut remarquer que $/O/$ de H_2O possédant deux doublets libres peut se lier à l'aide de ponts d'H à d'autres molécules d'eau [Fig. 4 (4)]. On peut expliquer ainsi qu'à la surface de la chaîne peptidique il y ait une couche d'eau orientée.



Formule n° 2



Formule n° 3



Formule 4

STRUCTURE DES PROTÉINES.

Certaines protéines constituent des chaînes droites (Meyer et Mark), par exemple la kératine. Pauling en 1951 proposa une configuration hélicoïdale de la molécule protéinique. Les liaisons entre CO et NH correspondent à chaque tour de spire ; chaque tour mesurerait 4 Å à 5 Å. La vérification expérimentale (réflexion des rayons X) de cette théorie a été faite.

PROTÉINES PLASMATIQUES ET SÉRIQUES.

En gros les protéines plasmatiques peuvent être classées en deux grandes catégories : celles à grosses molécules, les *globulines*, et celles à petites molécules, les *albumines*. Les modifications quantitatives et qualitatives des protéines plasmatiques et sériques peuvent être mises en

évidence par l'analyse chimique ; les résultats obtenus sont cependant insuffisants car cette analyse ne sépare que des groupes peu différenciés. Il est juste de reconnaître son utilité :

Une méthode physique spéciale, *l'électrophorèse*, a permis de différencier dans le plasma quatre fractions principales : le *fibrinogène*, les *globulines* γ , les *globulines* α , les *globulines* β et les *albumines*.

Le *fibrinogène* est élaboré par le système réticulo-endothélial intra et extrahépatique ; l'hypofibrinémie serait consécutive à l'insuffisance hépatique ; les néphroses, la leucémie provoqueraient l'hyperfibrinémie.

Les γ *globulines* ont un poids moléculaire d'environ 171.000. Leurs molécules comportent une quantité élevée de tryptophane et d'hydroxyaminoacides. En moyenne chaque molécule de γ globuline est constituée par 60 acides aminés. L'incertitude règne dans le problème de l'origine des γ globulines. Pendant longtemps on pensait que ces substances étaient formées par les cellules du système réticulo-endothélial. Depuis quelques années ce rôle est discuté et deux tendances s'affrontent.

Pour certains auteurs, seuls les lymphocytes adultes interviennent dans la production des γ globulines.

Pour d'autres ce sont des plasmocytes.

Parmi les globulines γ on distingue deux fractions : l'une la plus importante *soluble dans l'eau distillée* : la *pseudo-globuline* γ . L'autre l'euglobuline précipitable par dialyse. Les globulines γ légèrement modifiées constitueraient les anticorps, qui ne représentent donc que des globulines γ normales légèrement transformées par le matériel antigénique.

L'hyperimmunisation produit une augmentation des γ globulines parallèle à celle des anticorps. Epstein a décrit en 1929, comme une représentation morphologique de l'immunisation, la formation de nodules constitués par des cellules réticulaires entourées de nombreuses cellules

rondes non phagocytaires ressemblant à des plasmocytes et à des lymphocytes.

Les *globulines* α et β , les *albumines* seraient élaborées par le système réticulo-endothélial intra et extra-hépatique. L'albumine possède principalement une fonction mécanique due à l'effet tampon qu'elle assure et à la pression colloïdo-chimique dont elle est le support. Au cours des maladies de foie la diminution de cette protéine est proportionnelle à l'atteinte hépatique. Elle est compensée par l'augmentation du taux des γ globulines.

Le rôle du foie dans le métabolisme des protéines est très important. Il est classique de dire que les grosses perturbations dans la répartition des protéines sont dues à l'insuffisance hépatique ; il faut reconnaître que les modifications hormonales et les atteintes microbiennes retiennent elles aussi sur l'équilibre protidique.

Le taux normal protidique peut ne pas être modifié mais la répartition des différentes fractions peut l'être. Par exemple on trouverait une hypofibrinémie et une hyperglobulinémie γ dans les cirrhoses. Au cours d'ictères extra-hépatiques, le taux de l'albumine reste normal, il en est de même pour les γ globulines, mais les α globulines sont en baisse.

Une invasion microbienne même discrète fait augmenter les α globulines.

La connaissance de ces variations est d'une importance capitale en clinique.

CHAPITRE II

TESTS SEROLOGIQUES NON SPECIFIQUES

Il existe un grand nombre de méthodes relativement simples pour étudier l'équilibre protéinique du sérum et du plasma. Nous envisagerons ces tests sommairement.

L'adjonction de diverses substances au sérum sanguin peut provoquer la précipitation de certaines protéines.

Bande de coagulation de Weltmann: Cette réaction permet l'application de l'équilibre globulines γ /globulines α ; on utilise les propriétés de précipitation et de coagulation des protéines par adjonction de chlorure de sodium ; la réaction s'effectue au bain-marie *bouillant*.

Réaction au cadmium Whurmann et Wunderly : C'est un test de recherches des γ globulines, fondé sur l'évaluation d'un précipité provoqué par le sulfate de cadmium. Il faut remarquer que la positivité de cette réaction peut être due aussi bien à la diminution de la sérum-albumine qu'à l'augmentation des γ globulines ou des α globulines. Ce test est positif dans de nombreux états inflammatoires.

Thymol test de Mac Lagan : C'est un test de dosage des β globulines ; le louche obtenu par addition de quelques gouttes de sérum à une solution saturée de thymol est d'une appréciation difficile.

Réaction à la céphaline-cholestérine de Hanger : Cette réaction porte à la fois sur les β et les γ globulines.

Séro-formogélification de Gate Papacosta : C'est un test de recherches des γ globulines.

Test de Bennett Fulton : Cette réaction au sublimé porte sur le taux des γ globulines.

Fiche réticulo-endothéliale : Cette réaction consiste en la recherche du point isoélectrique des protéines à l'aide de solutions de pH différents. Ce test permet de doser α , β et γ globulines.

Réaction de Kunkel : Ce test utilise pour réactif le véronal additionné de sulfate de zinc ; l'intensité du trouble produit, lu au photomètre correspond sensiblement à la teneur du sérum en γ globulines.

Réaction de Vernes : Ce test permet de déceler les modifications des α globulines (tuberculose). Le réactif utilisé est constitué par une solution de résorcine dans l'eau distillée.

Test de Gros : C'est un test d'insuffisance hépatique : la floculation du sérum par un sel mercurique constitue son principe. L'intérêt de ce test est le même que les réactions de Mac Lagan et de Hanger.

Tous ces tests de sérologie non spécifiques ne donnent pas la totalité des composants sériques.

L'interprétation n'en sera le plus souvent possible et féconde qu'à la condition de les interroger en groupe.

Ces réactions possèdent l'avantage d'être rapides et simples, par conséquent d'être utilisables en clinique. Mais les résultats qu'elles donnent sont souvent d'une appréciation délicate. D'autre part elles dénaturent quelque peu les protéines.

Pour ces raisons il est permis de leur préférer des méthodes basées sur les propriétés électriques des particules uniquement.

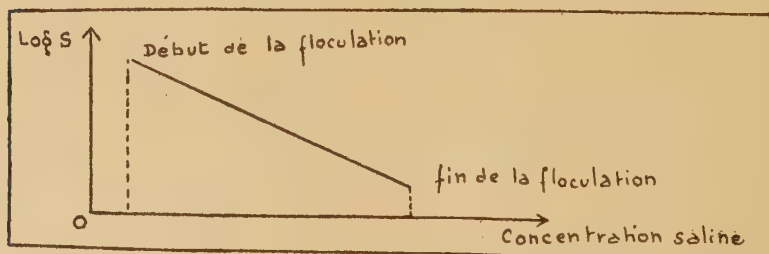
CHAPITRE III

METHODES DE FRACTIONNEMENT DES PROTEINES PLASMATIKES ET SERIQUES

On dispose de quatre méthodes principales pour fractionner le plasma ou le sérum en leurs éléments constituants.

RELARGAGE DU PLASMA SANGUIN PAR LES SELS NEUTRES.

Cette méthode obéit à la loi de Cohn qui régit la précipitation d'une protéine en fonction de la concentration saline de la solution. Cette loi s'exprime par la relation suivante : $\log S = \beta - K' S^\mu$; S étant la solubilité de la protéine, $K'S$ la constante de précipitation saline, μ la force ionique exprimant la concentration saline. β est une constante exprimant la concentration de protéines à saturation (Fig. 5).



Lorsqu'il y a plusieurs protéines en solution, elles déterminent chacune sur le graphique un segment. Les différents segments sont reliés par des angles. On détermine ainsi des fractionnements successifs.

Résultats : quatre fractions sériques principales :

- fraction euglobulinique ;
- fraction des pseudo globulines I ;
- fraction des pseudo globulines II ;
- fraction albuminique.

ULTRA-CENTRIFUGATION.

La séparation des phases est accentuée par la multiplication de l'effet de la pesanteur, cause naturelle de destruction des solutions colloïdales. L'appareil de Svedberg possède une vitesse de rotation qui atteint 1.000 tours à la seconde. La cuve de centrifugation est fenêtrée et un dispositif optique permet de suivre la chute des particules. On remarque que la sédimentation est proportionnelle à la masse, à la densité et à la forme des protéines.

Le diagramme obtenu par cette méthode nous montre quatre fractions principales :

- les lipoprotéïdes β de grandes dimensions moléculaires ;
- les albumines ;
- les globulines γ ;
- les globulines α .

FRACTIONNEMENT PAR LES SOLVANTS A BASSE TEMPÉRATURE.

Les solvants utilisés sont miscibles à l'eau, alcool méthylique, alcool éthylique, acétone. La physionomie électrochimique de la protéine est un caractère réellement spécifique qui conditionne son comportement en solution aqueuse.

Suivant la méthode de Cohn on fait varier la teneur en solvant et en électrolyte pour une température et un pH donnés. Cohn obtient six fractions qui sont desséchées par congélation sous un vide poussé.

ELECTROPHORÈSE.

Cette méthode sera étudiée dans les chapitres suivants.

DEUXIEME PARTIE

L'ELECTROPHORESE DES PROTIDES DU SERUM EN GENERAL

PRINCIPE — TECHNIQUES

DÉFINITION.

L'électrophorèse est une méthode de fractionnement des protéines plasmatiques et sériques, qui utilise les propriétés de migration des particules protéiniques en suspension dans un milieu liquide sous l'influence d'un champ électrique.

HISTORIQUE.

On considère généralement que le physicien Reuss a été le premier à effectuer en 1807 une électrophorèse. Il opérait à l'aide de deux tubes de verre plantés dans un bloc d'argile, du sable était déposé au fond de chaque tube ; les deux tubes remplis d'eau étaient reliés à une pile voltaïque. Lorsque le circuit était fermé, des particules d'argile passaient à travers la couche de sable et coloraient l'eau du tube qui était relié au pôle positif.

En 1861, Quincke montra expérimentalement que la vitesse des particules était fonction du gradient de potentiel.

C'est Michaelis qui en 1909 donna à ce procédé le nom d' « électrophorèse ». Mais il faudra attendre les travaux de Tiselius (1930-1937) pour que l'application de l'électro-

phorèse aux protéines puisse atteindre un développement rationnel aussi bien dans le domaine de la recherche pure que dans celui de la clinique.

Les échantillons nécessaires aux examens deviennent de moins en moins importants grâce à l'emploi de micro-cellules, mais ne permettent cependant pas d'effectuer une réelle micro-électrophorèse. Cependant Tiselius permet cette réalisation en utilisant en 1947 un analyseur optique fondé sur l'interférométrie.

Le succès remporté dans de nombreux domaines par la chromatographie suggéra d'effectuer la migration électrophorétique non pas au sein d'une solution, mais à l'aide d'un support comme le gel de silice, la gélose ou le papier buvard. De nombreux chercheurs s'attachent sur la base des travaux de Condsen, Gordon et Martin, à perfectionner cette nouvelle technique. L'électrophorèse sur papier bien moins coûteuse est de surcroît plus rapide que l'électrophorèse pratiquée en solution.

THÉORIE DE LA MIGRATION ÉLECTROPHORÉTIQUE.

Si une particule possédant une charge électrique q est soumise à un champ électrique d'intensité E , la force appliquée à la particule de la part du champ électrique sera $F = Eq$. Pour calculer cette force F , il faut connaître la force capable d'annuler cette migration.

Si le rayon de la particule supposée sphérique est r , $F = 6 M \eta V E$ — η étant le coefficient de viscosité du milieu et V la vitesse de migration, la mobilité u sera :

$$u = \frac{V}{E} = \frac{q}{6 M \eta r}$$

Mais il faut faire intervenir la présence de la double couche électrique. On constate que la vitesse des particules est proportionnelle à celle des ions électrolytiques.

On peut donc considérer que la forme de la particule et son orientation jouent un rôle peu important.

Nous avons vu que la nature de la courbe ionique est sous la dépendance du pH et des électrolytes utilisés. Ceux-ci agissent par leur force ionique, qui est le demi-produit de la concentration par le carré de la valeur. La mobilité est donnée par l'équation :

$$u = \frac{V}{E} = \frac{SmX}{It}$$

S étant la surface en centimètres carrés de la section transversale de la solution, m la distance parcourue en centimètres par la particule dans le temps t exprimé en secondes. X représente la conductivité spécifique de la solution, I l'intensité du courant.

Les facteurs qui conditionnent l'électrophorèse sont donc :

1. *La forme et la dimension de la cellule* : Tiselius a préconisé l'emploi de tubes à section rectangulaire évitant les turbulences lors de la mise en contact des solutions permettant l'établissement de niveaux initiaux très nets, appelés frontières.

2. *La tension et l'intensité du courant* : Le courant utilisé est continu. Dans les sérums, la valeur moyenne employée est $v = 180$ volts et $I = 22$ mA : il n'en est pas de même pour l'électrophorèse sur papier.

3. *Le pH et la force ionique de la solution* : On a préconisé l'emploi de tampons aux phosphates alcalins relativement peu coûteux, de tampons au véronal qui sont très coûteux. Pour l'électrophorèse sur papier la quantité de tampon à utiliser étant minime on pourra employer des tampons au véronal.

Les valeurs de pH les plus utilisées sont : 7,4 — 7,7 — 8,6. Avec l'appareil de Tiselius on a même utilisé des tam-

pons de pH 4,5 montrant un dédoublement de l'albumine. On se sert aussi couramment de tampons au borate de pH 3,5 pour l'électrophorèse sur papier des glucides. Il faut souligner qu'au point isoélectrique la vitesse des particules est nulle. Le sens de migration s'inverse de part et d'autre de ce point.

La solution à tester doit posséder une force ionique et un pH rigoureusement identique à la solution tampon ; on l'obtient par dialyse prolongée : 48 heures environ.

Les quantités de sérum utilisées étant minimales par rapport à la masse du tampon, on peut se dispenser de la dialyse si l'on effectue une électrophorèse sur papier.

4. *La température* : Au cours d'une électrophorèse la température doit être constante le plus possible. Toute variation de température influe sur la conductivité, donc sur la mobilité des particules. Ce facteur n'étant en général pas maintenu constant dans l'électrophorèse sur papier on se contente de mesures relatives par rapport à un constituant de mobilité déjà connue.

CHAPITRE PREMIER

ELECTROPHORESE CLASSIQUE OU DE FRONTIERE

PRINCIPE.

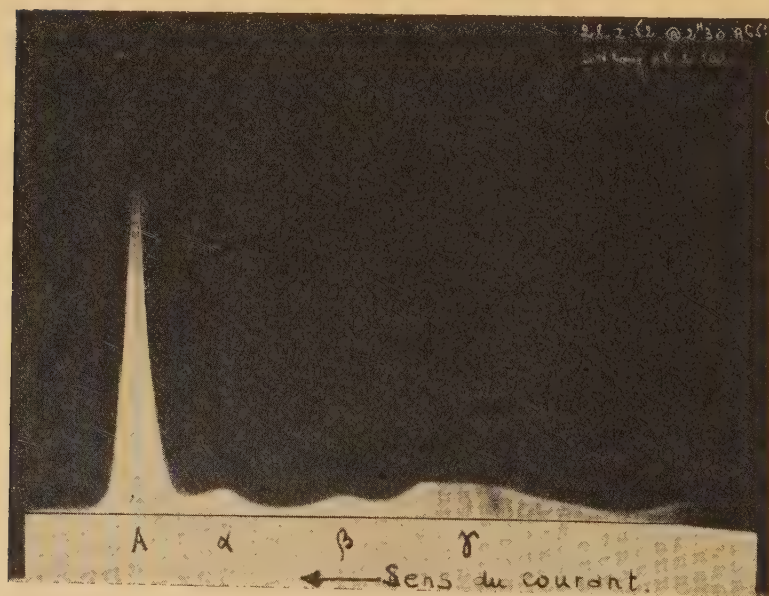
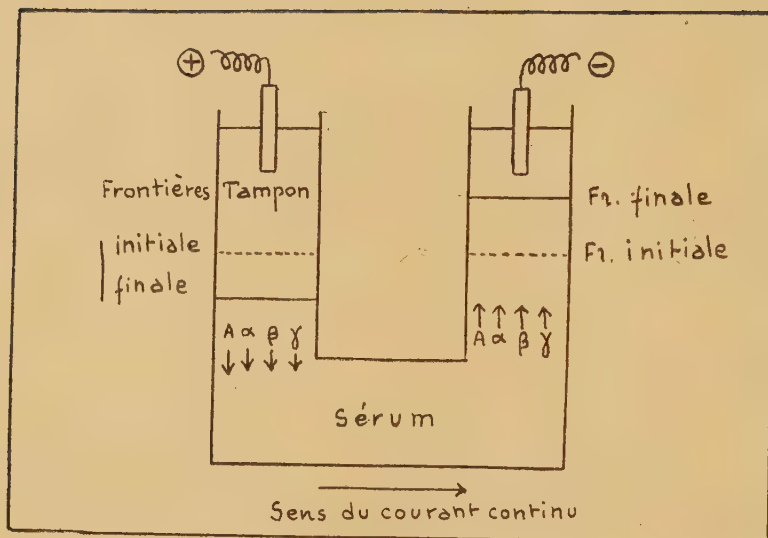
Cette méthode consiste à observer non pas la migration des particules mais seulement le déplacement de la frontière séparant la solution de ces particules, d'une autre solution de même composition mais dépourvue de particules. La frontière est déterminée optiquement par la différence d'indice de réfraction entre les deux solutions.

APPAREILLAGE.

L'appareil comprend quatre parties principales :

- une cellule ;
des vases à électrodes cylindriques reliés à la cellule ;
- un bain à température constante de $+ 8^{\circ}$;
- l'appareillage optique de lecture.

La cellule est généralement formée par un tube en U ou en V à section rectangulaire. La partie médiane peut se déplacer permettant, lors du remplissage de la cellule, de mettre en contact sans remous les solutions tampons et de protéines (Fig. 6).



ANALYSE OPTIQUE.

Lorsque le courant est appliqué aux électrodes, les protéines migrent avec des vitesses propres à chacune d'elles.

Lorsqu'un rayon lumineux traverse tangentielllement une frontière, il s'infléchit vers le milieu ayant l'indice le plus élevé, mais les frontières ne sont jamais parfaitement tranchées : la déviation du rayon lumineux devient nulle, passe par un maximum et décroît, décrivant une courbe de Gauss. Sur l'écran, on obtient une image que l'on photographie (Fig. 7). On mesure sur cette photo les aires qui sont proportionnelles aux substances dissoutes. Nous obtiendrons deux courbes, une courbe pour le côté ascendant, une autre pour le côté descendant.

Du côté ascendant les pics sont plus aigus, du côté descendant ils sont moins marqués. Cela provient du fait que la conductibilité spécifique de la solution à analyser est inférieure à la conductibilité du tampon. Il en résulte une variation du champ électrique qui est plus grand dans la solution à analyser que dans le tampon.

TECHNIQUE.

Les opérations nécessaires à une électrophorèse seront rapidement exposées.

Le sérum est dilué avec la solution tampon. On dialyse à $+4^{\circ}$ pendant une journée les deux solutions. Ensuite on remplit la partie basse de la cellule, puis la partie médiane avec la solution de protéine qui sera du côté de la cathode. L'autre branche après rinçage est remplie de solution tampon, de même que les vases à électrodes. L'ensemble est porté dans un bain thermostatique.

Lorsque l'équilibre des températures est atteint, on interrompt les communications avec le siphon de l'appareil, et on met en contact la partie médiane de la cellule avec les parties verticales. (On reconstitue le tube en U.)

On enregistre à l'aide de photographies les frontières de départ. Le courant est appliqué aux électrodes. Après un

certain temps (2 heures) on enregistre le déplacement des protéines.

INTERPRÉTATION.

Elle comprend deux temps :

— Reconnaissance *qualitative* de la *nature* des différents constituants.

— Calcul des *quantités respectives* de ces divers constituants.

1. *Reconnaissance des différents constituants* : D'après Wiedemann une fraction pure isolée peut se présenter sous la forme d'une courbe Gaussienne. On peut donc appliquer des courbes de Gauss dont l'assemblage crée le plus possible le tracé représenté. Si l'on abaisse une perpendiculaire de chaque sommet à la base on obtiendra ainsi le déplacement de chacun des constituants.

2. *Calcul des quantités respectives de ces constituants* : Le calcul des aires se fera à l'aide d'un planimètre. On peut aussi utiliser des tables correspondant à des courbes inscrites au micro-film que l'on projette sur le cliché. Afin de posséder des valeurs absolues on procède à la détermination de la somme des constituants par d'autres méthodes (colorimétrie). Dans certains cas pathologiques, on remarque que l'aire des α et β globulines est diminuée si le sérum est délipidé au préalable. Le calcul des protéines est ainsi faussé, car la variation d'indice de réfraction n'est pas rigoureusement proportionnelle à la concentration en protéines. Cet inconvénient n'existe pas avec un appareillage n'utilisant pas la lecture fondée sur les variations de l'indice de réfraction (électrophorèse sur papier).

CHAPITRE II

ELECTROPHORESE SUR PAPIER OU DE ZONE

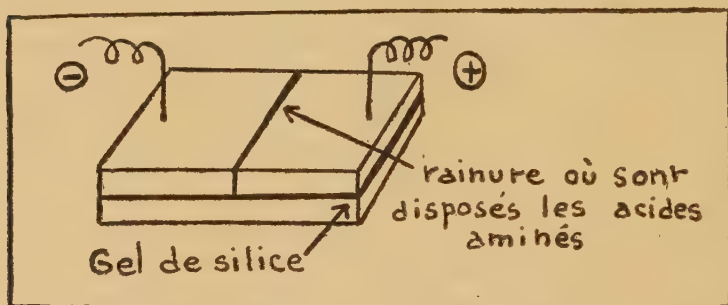
L'enregistrement optique et l'appareillage étant très coûteux, l'utilisation de l'électrophorèse de frontière n'est réellement possible que pour des stations de recherches ou des établissements hospitaliers importants. C'est lors de l'utilisation clinique courante que l'électrophorèse de zone ou micro-électrophorèse rend les plus grands services. L'appareillage nécessité est relativement simple et les quantités de sérum à utiliser sont minimales : 0,015 à 0,025 cc.

PRINCIPE.

Dans cette méthode les composants à analyser sont stabilisés dans un milieu support. A cet effet différents milieux ont été employés: amidon, gel de silice, papier filtre. La méthode de microélectrophorèse sur papier a pu progresser grâce à l'étude précise de la chromatographie sur papier faite en 1944 par Condesen Gordon et Martin. Cette méthode repose principalement sur les phénomènes de capillarité. Le papier filtre en feuille est placé dans une atmosphère saturée de vapeurs d'eau et du solvant organique employé. Le bord supérieur du papier filtre est replié et plonge dans une cuve contenant le solvant organique qui imprègne le papier. La substance à analyser est disposée en une ou plusieurs gouttes le long du pli. En progressant par capillarité le long de la feuille, le solvant entraîne plus ou moins loin les différents composants de

la substance à analyser. Le papier est séché et on le développe par pulvérisation ou immersion de colorants spécifiques des composants recherchés. Afin que la méthode soit plus sélective, on peut constituer un chromatogramme à deux dimensions. Après une première opération décrite préalablement, on fait pivoter la feuille de 90° et on imbibe le nouveau côté avec un solvant différent, une seconde séparation des premières taches est ainsi obtenu. L'étude des acides aminés s'accommode bien de ce genre d'analyse.

Condens Gordon et Martin, en utilisant le courant électrique et le gel de silice comme milieu support, ont pratiqué une ionophorèse (Fig. 8).



L'électrophorèse sur papier se rapproche beaucoup de l'ionophorèse, mais elle utilise le papier filtre comme milieu support, ainsi que des solutions tampons.

La théorie de l'électrophorèse classique, sur la migration des micelles protéiniques sous l'influence d'un champ électrique s'applique à l'électrophorèse sur papier.

MÉTHODE.

L'appareillage nécessaire comporte :

- un système d'alimentation en courant continu ;
- des vases à électrodes ;
- le papier filtre ;
- une enceinte hermétique.

Alimentation : Le courant électrique sera continu et sans variations de tension. Wunderly utilise 7-9 mA sous 125-135 volts pour une durée de 8 heures. Machebœuf emploie 3 mA sous 320 volts pour une électrophorèse durant 6 heures — chiffres soumis aux dimensions des bandes (la largeur en particulier).

Vases à électrodes : Chacun des deux vases à électrodes est divisé en deux parties, l'une dans laquelle trempe le papier, l'autre plus petite communiquant avec la première reçoit les électrodes en platine. Cette disposition ayant pour but d'éviter les répercussions sur la bande des modifications de pH du tampon dues à l'électrolyse au niveau des électrodes.

Papier filtre : On emploie généralement du papier Whatman n° 1 ou n° 2, soit du papier Munktell n° 20. Le papier est découpé en bandes ; au milieu de la bande et perpendiculairement à sa plus grande dimension on trace une ligne servant de point de départ.

Enceinte : Afin d'éviter le plus possible l'évaporation par échauffement du bain, il y a intérêt à opérer au sein d'une enceinte hermétique qui constitue une chambre humide. Il est aussi possible de refroidir l'appareil pour absorber l'effet Joule provoqué par le passage du courant électrique. Tiselius, Wunderly [41] trempent les bandes de papier dans un chlorobenzène ; en effet, il a été constaté sous les tensions habituellement employées, que la température du chlorobenzène ne s'élève que de 5° par heure ; la durée de l'électrophorèse ne permet pas à un échauffement anormal de se produire.

Après une durée suffisante du passage du courant, le papier est séché et introduit dans un bain de colorant.

INTERPRÉTATION.

On peut avec le bleu de bromophénol employé pour la coloration, interpréter l'électrophorèse quantitativement.

Il suffit de découper les bandes suivant les taches caractéristiques de chaque protéine. On dosera ensuite la quantité de colorant fixé après dissolution. Toute mesure effectuée avec le bleu de bromophénol exigera l'emploi d'un coefficient car il favorise les albumines. Si le coefficient applicable aux albumines est 1, il faudra affecter aux globulines 1,6. Ce facteur 1,6 a une valeur moyenne pour les globulines car il existe des index de coloration individuels pour chacune d'elles. Le rapport des valeurs de l'électrophorèse sur papier aux valeurs de l'électrophorèse de frontière et l'étude des index de coloration individuels sont en cours d'expérimentation.

P. Groulade et J. Groulade [13], après coloration à l'amidoschwartz 10 B, rendent la bande transparente : elle est ensuite passée à l'électrophotomètre qui donne millimètre par millimètre la densité optique des spots selon la technique de Grossman, Hannig et Knedel. Actuellement on révèle même sur l'électrophoregramme, outre les protides, les lipides avec des colorants tels les soudans rouge III et IV (Fusoli), soit avec le soudan noir (Swahn). Après les travaux de Koiw en 1952 déroulant de ceux de Seibert (1947), sur les polysaccharides du sang, on révéla les glucides avec l'acide périodique et la fuchsine de Schiff. Ed. Benhamou, J. Pugliese, J.-C. Chiche et Amouch [1] ont recherché l'emploi du bleu de Toluidine dans la micro-électrophorèse sur papier avant et après oxydation, les albumines présentent une trainée bleu homogène foncé, les fractions $\alpha 1$, $\alpha 2$ et β sont peu importantes. Il faut bien faire remarquer qu'il n'y a aucune possibilité de comparer les résultats obtenus avec des colorants différents.

TECHNIQUE UTILISÉE.

Les électrophoregrammes ont été obtenus à l'aide de l'appareil à microélectrophorèse construit et mis au point par R. Barrat (Laboratoire Biolyon, Directeur Docteur Joud).

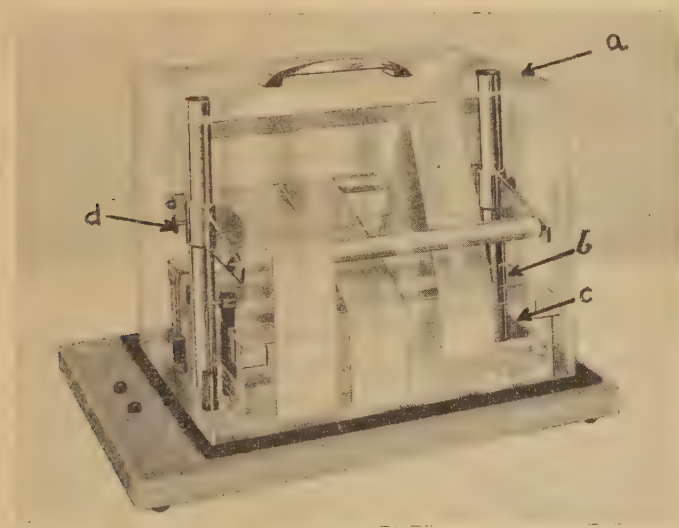
APPAREILLAGE.

— Le bloc d'alimentation comprend un milliampère-mètre et un potentiomètre permettant des variations de 80 à 360 volts, sous une intensité pouvant atteindre 25 milliampères.

— L'enceinte hermétique est délimitée par une enveloppe en verre [Fig. 9 (a)].

— Les vases à électrodes en plexiglass comportent deux compartiments, un interne (b) qui reçoit les électrodes et un externe (c) qui reçoit les bandes de papier filtre.

Ces bandes (au nombre de trois sur la photo) sont disposées sur un support qui est mobile verticalement (d). Elles occupent sur ce support des inclinaisons variées.



L'appareil est conçu pour l'utilisation simultanée de 4 bandes de 4,5 cm. de largeur. A raison de trois expériences par bande on peut compter sur 12 électrophorèses en cinq heures de passage de courant.

La distance de migration est de l'ordre de 18 cm.

OPÉRATIONS.

Les électrodes sont mises en place plongeant dans le compartiment interne ; on remplit les cuves avec la solution tampon en équilibrant les niveaux.

On leste ensuite les bandes de papier filtre larges de 4,5 cm. à l'aide de contre-poids en verre qui les maintiendront tendues. Les bandes sont placées à cheval symétriquement sur le support mobile ; elles plongent dans le compartiment externe. On laisse les bandes s'imbiber.

On met en place les produits à analyser à la concentration de 2% sur la partie horizontale de la bande. On peut procéder pour cela de deux façons :

1° Déposer avec une micro-pipette deux ou trois gouttes de sérum ;

2° Superposer dans le sens de la largeur une étroite bandelette de papier filtre de 2 à 3 mm. de large, préalablement imbibée de sérum.

— Le potentiomètre est placé au milieu de sa course, et on règle l'intensité du milliampèremètre. Il est conseillé d'employer 0,5 mA par cm. de largeur de bande, soit 8 à 9 milliampères si l'on emploie 4 bandes.

Le courant est maintenu pendant 4 à 12 heures suivant le tracé demandé.

— On arrête le courant et on procède immédiatement au séchage des bandes. Ce séchage peut s'effectuer soit aux rayons infra-rouges, soit à l'étuve à 100° pendant une demi-heure. A l'aide des rayons infra-rouges les bandes sont placées à 10 cm. des lampes pendant une dizaine de minutes. Le bloc permet l'alimentation d'une lampe à infra-rouges.

— Les bandes sont colorées de deux façons différentes, soit au bleu de Bromophénol, soit au colorant « G. » (1). Si

(1) Le colorant « G » répond à une formule commerciale non divulguée, mais se rapprochant de la précédente.

l'on emploie le bleu de bromophénol la préparation suivante est utilisée :

Bleu de bromophénol : 1 gramme.

Chlorure mercurique : 30 grammes.

Ethanol à 96° : 100 cm³.

On laisse le colorant agir pendant 10 minutes, puis on lave la bande avec un faible courant d'eau.

— Si l'on emploie le colorant « G », la bande est plongée dans la solution pendant 5 minutes, puis lavée à l'eau courante. Ensuite on applique sur la bande une solution de Méthanol additionnée de 10 % d'acide acétique. Cette opération est recommencée jusqu'à décoloration du fond. Le dernier lavage est opéré au méthanol seul pour éliminer l'acide acétique. Le colorant « G » ne favorise pas les albumines au détriment des globulines comme le bleu de Bromophénol.

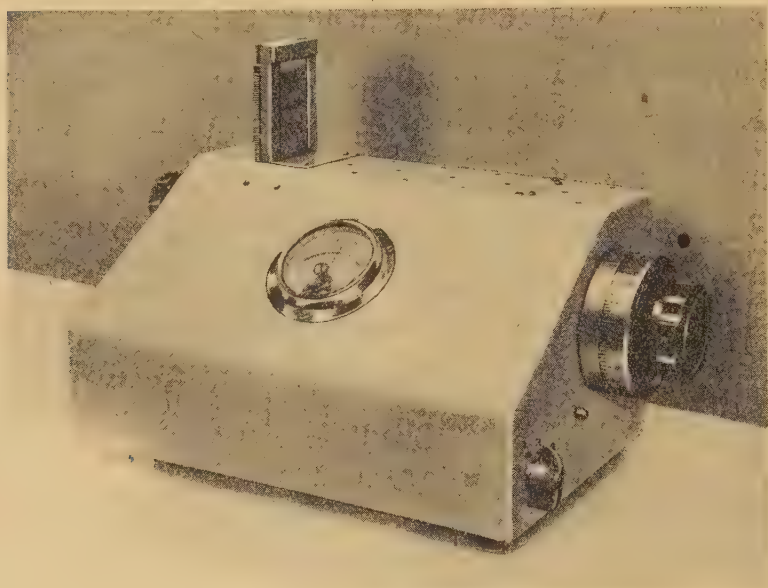
INTERPRÉTATION.

L'interprétation quantitative pourra être faite par élution du colorant suivant les taches de l'électrophoregramme. On peut aussi opérer la lecture des bandes par comparaison avec une bande témoin d'un sérum normal. Avec une certaine habitude, on peut arriver à estimer l'augmentation ou la diminution, et même l'absence de certains constituants. Cette technique est la plus simple mais peut cependant rendre des services en clinique lors de modifications sériques importantes.

L'interprétation la plus précise est donnée par le lecteur de bandes à deux cellules photoélectriques chiffrant avec rapidité le résultat de l'électrophorèse, son tampon-comparateur étant gradué directement en densités optiques (Fig. 10).

On reportera sur du papier millimétré, en ordonnées les chiffres lus sur le tambour et en abscisses les longueurs de bande. La réunion de tous les points ainsi obtenus don-

nera la courbe d'électrophorèse. D'une façon générale, dans l'électrophorèse papier les constituants sont assez bien séparés pour qu'il suffise d'abaisser des perpendiculaires sur la ligne de base depuis les joints d'inflexion les plus bas de cette courbe. Les surfaces ainsi délimitées



sont proportionnelles au pourcentage des constituants. Elles seront évaluées soit par planimétrie, soit par comptage des petits carreaux sur papier millimétré.

Dans les cas plus complexes, on appliquera les méthodes de projection de courbes de Gauss et extrapolation.

CHAPITRE III

COMPARAISON DES DEUX TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE

L'électrophorèse de frontière est une méthode très précise, l'équipement en est coûteux et son emploi exige un travail long et délicat.

L'électrophorèse sur papier ne nécessite qu'un appareillage peu onéreux, son emploi est beaucoup plus simple et rapide (absence de dialyse notamment). Elle n'exige que des quantités minimales de sérum. L'interprétation en est certes moins précise.

L'électrophorèse classique ne peut donc s'appliquer couramment à la clinique, mais elle constitue un excellent moyen de référence.

Il faut cependant considérer que les études sur les techniques d'électrophorèse sur papier sont en plein développement. Les recherches systématiques des indices de coloration, notamment, en augmenteront la précision.

TROISIEME PARTIE

APPLICATIONS ET RESULTATS DE L'ELECTROPHORESE DES PROTIDES DU SERUM

A l'origine, l'électrophorèse fut une méthode uniquement orientée vers la *recherche* pure. Par l'étude des modifications survenant dans les sérums pathologiques, on pensa en faire une méthode de *diagnostic*. En réalité, elle constitue seulement un moyen complémentaire de diagnostic. Elle présente un intérêt certain du point de vue *pronostic*. Aussi l'électrophorèse a-t-elle fait l'objet d'études non seulement chez l'homme mais également chez les animaux et aussi les végétaux.

Ses applications cliniques et physiologiques sont immenses ; nous passerons en revue quelques travaux accomplis en médecine humaine et en médecine vétérinaire. Ensuite les résultats obtenus à l'aide de l'appareil à électrophorèse sur papier précédemment décrit seront exposés.

I. — TRAVAUX ANTERIEURS

a) EN MÉDECINE HUMAINE.

Les moyennes de pourcentages généralement admis chez l'homme sont les suivants :

Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Bêta	Gamma
61 ± 3	5 ± 2	7,5 ± 2	12,5 ± 2	14 ± 2

Chez les vieillards, toutes les globulines sont en nette augmentation.

Au cours de la grossesse, le taux des α et des β globulines s'élève. Il y aurait là un sujet d'étude intéressant en médecine vétérinaire à condition de prouver la précocité de cette augmentation et sa constance chez les espèces animales.

La *tuberculose* sous toutes ses formes a été examinée. Dans la tuberculose pulmonaire, les périodes évolutives sont caractérisées par une augmentation des globulines α 2. On remarque que si le traitement instauré est efficace, le taux des globulines α 2 revient à la normale. A mesure que l'état du malade s'améliore et que la guérison approche on remarque une variation du taux des globulines γ dans le sens d'un accroissement. Il est possible ainsi de classer les malades en sachant avec précision lesquels sont les plus atteints.

Au cours de la méningite tuberculeuse, les mêmes phénomènes se produisent. On a même vu l'augmentation du taux des globulines α 2 précéder une rechute [30].

Dans le *rhumatisme cardiaque*, la valeur sémiologique de l'électrophorèse s'impose, la distinguant nettement de l'endocardite d'Osler. Au cours de celle-ci il existe une augmentation des γ globulines sans modification des globulines α ou β . La gravité de l'affection est proportionnelle à l'augmentation des γ globulines. Par contre une forte augmentation des globulines α 2 caractérise la maladie de Bouillaud.

Au cours de la *néphrose lipoidique*, l'élévation du taux des globulines α 2 est considérable. On observe quelquefois une chute du taux des γ globulines, ce qui permet de faire la distinction avec une néphrite (augmentation des γ globulines). L'électrophorèse permet de distinguer une simple amélioration clinique d'une guérison totale avec retour à la protéinémie normale.

Lors d'*infarctus du myocarde*, la globuline β s'élève au début de la maladie et est bientôt suivie par une augmentation de la globuline α .

De nombreuses électrophorèses ont été faites chez les *cancéreux* afin de tenter d'établir une méthode de diagnostic précoce. Dans ce cas, généralement toutes les globulines sont augmentées. La globuline α peut augmenter de plus de 45 %. Le volume du néoplasme joue un rôle dans cette protéinémie. Plus le néoplasme est important, plus grande est la désintégration protéinique [10].

Au cours de nombreuses *dermatoses*, on a procédé à l'électrophorèse du sérum des malades. Dans l'ensemble, les chiffres obtenus tendent aux mêmes modifications chez tous les sujets atteints d'une même affection ; mais il faut considérer que bien des altérations cutanées constatées sont communes à des affections par ailleurs différentes. On assiste à la baisse de l'albumine et à l'élévation des α globulines dans les affections inflammatoires aiguës et à l'élévation des γ globulines dans les affections chroniques : *eczéma* [23].

Les techniques d'exploration des *épanchements articulaires* font appel à l'étude de l'équilibre protéique grâce à l'électrophorèse. Seule l'électrophorèse permet la comparaison exacte des différentes fractions protidiques du liquide articulaire et du sérum des malades.

L'intérêt pratique de l'électrophorèse est grand pour le diagnostic des *anémies hémolytiques héréditaires*. Ainsi différentes hémoglobines ont pu être distinguées, Hémoglobine A et F. L'électrophorèse de l'hémoglobine prend une place de plus en plus importante dans les examens hématologiques [5].

A l'aide de l'électrophorèse, Kauffmann [20] a distingué deux types d'états inflammatoires : ceux qui s'accompagnent d'*hyperglobulinémie α* et de *leucocytose* et ceux qui s'accompagnent d'*hyperglobulinémie γ* et de *leucopénie*. Le premier type répond à l'*inflammation aiguë à tendance suppurative*, la leucose est du type polynucléose, il existe alors une réaction locale douloureuse et congestive traduisant l'atteinte neurovasculaire et des phénomènes humoraux comparables à ceux du stress.

Le deuxième type est caractérisé par l'augmentation des globulines et la leucopénie (souvent avec monocytose) ; il existe alors une réaction diffuse du S.R.E. L'absence de lésion suppurative va de pair dans ce type γ de l'inflammation avec l'absence de leucocytose. On ne retrouve pas les symptômes d'ordre neurovasculaire ou endocrinien qui caractérisent les phénomènes du type α . Ce type d'inflammation se voit surtout au cours de certaines maladies parasitaires et au cours de maladies « autoentretenues ». On donne ce nom aux affections dont l'évolution se produit d'elle-même une fois que le départ en a été donné. Il faut ajouter que dans certaines γ on observe à la fois une hyperglobulinémie α et γ . Chacune de ces hyperglobulinémies garde sa signification : l'augmentation des globulines α traduit la réaction nerveuse et vasculaire douloureuse et congestive et le stress.

L'augmentation des globulines γ traduit l'hyperfonctionnement réticuloendothélial et l'apparition de réactions immunologiques.

On a remarqué que des sujets atteints d'hypo γ globulinémie sont victimes assez souvent d'infections récurrentes. Ce qui prouve le rôle anticorps des globulines γ .

Ces données cadrent du reste étroitement avec celles données par Jayle dans sa classification des formes colloïdochimiques du plasma. De nombreux traitements ont été accomplis en ce qui concerne la pathologie hépatique, le diabète, les hémopathies.

b) EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE.

Chez le Chien :

A. Tapernoux, A. Magat et Mlle M. Gonnet [36] ont fait l'étude électrophorétique de quelques chiens sains.

P. Groulade et J. Groulade [13] ont obtenu par électrophorèse de sérums de chiens sains les résultats suivants :

Albumines	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
60,5 $\pm$ 3	4 $\pm$ 1	7,5 $\pm$ 2	8,5 $\pm$ 1,5	11,5 $\pm$ 1	7,6 $\pm$ 1,5

Au cours de la *maladie de Carré*, les résultats obtenus sont très variables et ne permettent pas de tirer de conclusions nettes. Dans un travail récent, P. Groulade, J. Groulade et B. Drufovka [14] ont étudié des sérums de chien frais et des sérums vieillis. Les modifications proviennent de la perte de fractions lipidiques qui précipitent au cours du vieillissement des sérums.

Chez le Cheval :

Les électrophorèses de chevaux infectés expérimentalement d'*anémie infectieuse* ont été faites par Hirtz [16]. Il ne semble pas que cette maladie entraîne une variation du quotient albumines/globulines. Les perturbations causées par la maladie dans les sérums du malade sont de peu d'importance.

L'électrophorèse ne permet pas le diagnostic de l'anémie infectieuse du cheval.

Chez le Porc :

H. Hill et G. Schumann ont examiné 20 sérums de *porcs sains* et ont obtenu les pourcentages moyens suivants :

Albumine	α	β	γ
47,4	19,8	14,7	18,4

Chez les Oiseaux :

Des électrophoregrammes de sérum et de plasma de poules *leucosiques* ont été établis par Atanaziu et Slicke-witz [34]. Aucune modification n'a pu être révélée. Il est probable que la rapidité d'évolution de l'affection peut expliquer cette absence de réactions protéiniques.

II. — RECHERCHES PERSONNELLES

Pour réaliser cette étude nous avons prélevé des sérums sur des animaux des Hôpitaux de l'Ecole Nationale Vété-

rinaire de Lyon, aux Abattoirs de Lyon-La Mouche (1) et pour les animaux producteurs de sérum à l'Institut Mérieux (2).

Notre condisciple R. Mical [26], établissait pour chacun des sérums sa fiche de résultats de sérologie non spécifique. L'autopsie des animaux était ensuite pratiquée.

ANIMAUX SAINS

Nous regretterons le nombre réduit d'expériences, car une moyenne de plus nombreux cas serait préférable. Néanmoins les cas examinés ont fait l'objet d'un choix minutieux concernant leurs antécédents, car rien n'est plus difficile que de savoir le passé pathologique d'un animal et d'affirmer s'il est véritablement normal ou non.

Chien (moyenne sur 6 électrophoregrammes).

Les résultats suivants ont été obtenus :

Albumine	39 %
Globulines :	
α	8,2 %
β	30,3 %
γ	22,5 %

Chevaux (moyenne sur 8 électrophoregrammes) :

Albumine	15 %
Globulines :	
α	5,1 %
β	21,9 %
γ	58 %

(1) Que M. le Docteur Vétérinaire FONTENAILLE, Directeur des Abattoirs de Lyon-La Mouche, accepte ici nos remerciements.

(2) M. le Colonel GARDON, de l'Institut Mérieux, nous a fourni ces services et nous l'en remercions bien vivement.

Bovins (moyenne sur 5 électrophoregrammes) :

Albumine	15,4 %
Globulines :	
α_1	6,8 %
α_2	13,5 %
β	19,7 %
γ	44,6 %

ANIMAUX MALADES

Seuls les sérums des animaux qui paraissaient être notablement modifiés par l'examen des tests non spécifiques ont été soumis à l'électrophorèse.

CHIEN ATTEINT DE MALADIE DE CARRÉ.

Le sérum d'un chien atteint de maladie de Carré (inoculation expérimentale, phase septicémique) nous a fourni les résultats suivants :

Albumine	45,1 %
Globulines :	
α_1	1 %
α_2	4,3 %
β	15 %
γ	34,6 %

Par comparaison avec l'animal sain, on constate une modification du taux des β et γ globulines diminuées proportionnellement.

CHIEN ATTEINT D'URÉMIE.

Albumine	31,5 %
Globulines :	
α_1	2,1 %
α_2	10 %
β	18,2 %
γ	38,2 %

On constate une légère augmentation des α globulines ainsi que des γ globulines, par contre les β globulines sont fortement diminuées.

CHIEN ATTEINT DE LEISHMANIOSE.

Cet électrophorégramme n'a pas été lu parce que pratiquement seule la présence d'un taux important de γ globulines était visible (ce résultat fera l'objet d'une discussion ultérieure).

CHAT ATTEINT DE CANCER HÉPATIQUE.

Albumine	21,2 %
Globulines :	
α_1	3,2 %
α_2	22,2 %
β	16,5 %
γ	36,9 %

La présence de très nombreux clochers sur la portion correspondant aux γ globulines est remarquable. Toutes ces transformations ne sont sans doute pas dues au cancer proprement dit mais à la transformation anarchique des cellules hépatiques et à la cirrhose mise en évidence à l'autopsie.

ANIMAUX IMMUNISES ET HYPERIMMUNISES

A) CHIEN PRODUCTEUR DE SÉRUM ANTIVIRUS (antivirus de Carré).

Deux prélèvements à des dates différentes ont été faits afin de tenter de déterminer les modifications sérologiques provoquées par l'immunisation.

— Prélèvement du 2 mars 1953 après 20 jours d'immunisation :

Albumine 49,5 %

Globulines :

α_1 2,1 %

α_2 5,2 %

β 16,8 %

γ 26,4 %

— Prélèvement du 25 mars 1953 après 43 jours d'immunisation :

Albumine 40,6 %

Globulines :

α_1 3,5 %

α_2 4,7 %

β 12,5 %

γ 38,7 %

Une notable augmentation de globulines γ est mise en évidence au cours de l'immunisation. Leur taux passe de 26,4 % au 2 mars à 38,7 % au 25 mars.

B) CHEVAUX PRODUCTEURS DE SÉRUM ANTITOXIQUE (SÉRUM ANTITÉTANIQUE).

Nous avons utilisé le sérum de deux chevaux hyperimmunisés contre la toxine tétanique. Le prélèvement a été fait en fin d'hyperimmunisation.

— Cheval « Ipéca » :

Albumine 48 %

Globulines :

α_1 6 %

α_2 7 %

β 13 %

γ 26 %

— Cheval « Indican » :

Albumine 46 %

Globulines :

α_1 5 %

α_2	8,5 %
β	16 %
γ	24,5 %

C) CHEVAUX PRODUCTEURS DE SÉRUM ANTIMICROBIEN (SÉRUM ANTIROUGET).

Nous avons utilisé le sérum de deux chevaux hyperimmunisés contre le rouget du porc. Le prélèvement a eu lieu en fin d'hyperimmunisation.

— Cheval « Homard » :

Albumine 32 %

Globulines :

α_1	6 %
α_2	10 %
β	19 %
γ	33 %

— Cheval « Hâbleur » :

Albumine 38 %

Globulines :

α_1	7,5 %
α_2	9 %
β	16 %
γ	29,5 %

Il faut remarquer un écart entre les pourcentages des deux chevaux — notamment en ce qui concerne les γ globulines plus abondantes chez le cheval « Homard ».

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION DES RESULTATS COMPARAISON AVEC LES RESULTATS OBTENUS A L'AIDE DES METHODES DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

CHAPITRE PREMIER

DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS PAR ELECTROPHORESE SUR PAPIER

1° ANIMAUX SAINS.

Dans le cadre trop restreint de nos expériences, nous avons pu constater, en accord avec de nombreux auteurs, certaines particularités des sérums des animaux en général.

Il faut remarquer que chez les *animaux le taux des albumines est généralement beaucoup plus faible que chez l'homme*. Alors que chez celui-ci le taux des albumines s'établit aux environs de 60 %, chez le chien nous trouvons 40 %, le porc 30 %, le cheval et le bœuf aux alentours de 15 %.

Par contre le taux des γ *globulines* est nettement *plus élevé chez les animaux*, environ 23 % chez le chien, 27 % chez le porc, 45 % chez le bœuf et 58 % chez le cheval, contre 14 % chez l'homme.

Le taux des α globulines est à peu près identique à celui de l'homme (11 %).

Le taux des β globulines est plus élevé chez les animaux que chez l'homme. Alors que chez le dernier il est d'environ 12,5 %, nous avons trouvé chez le chien 30,3 %, chez le porc 19,3 %, chez le bovin 19,7 % et chez le cheval 21,9 %.

En résumé nous dirons que si chez les animaux le taux des albumines est nettement plus faible que chez l'homme, le taux des globulines, spécialement des β et des γ globulines, est plus élevé.

Ces résultats sont sensiblement les mêmes que ceux de J.-A. Berger [7], en ce qui concerne le porc, le chien et les bovins. Nos résultats sont nettement différents dans le cas du cheval.

	A	α	β	γ
Porc	39	19	21	21
Chien	47,2	12,2	22	18,6
Cheval	24	15	25	36
Vache	38,5	8,1	13	40,4

Par contre, les résultats de P. Groulade et J. Groulade [13] obtenus avec du sérum de chien, sont sensiblement différents.

A	α_1	α_2	β_2	β_2	γ
$60,5 \pm 3$	4 ± 1	$7,5 \pm 2$	$8,5 \pm 1,5$	$11,5 \pm 1$	$7,6 \pm 1,5$

Il semble donc que les limites physiologiques sont assez étendues.

Les écarts existant entre les résultats d'auteurs différents nous conduisent à faire remarquer que l'électrophorèse possède une valeur relative, donc surtout une valeur pronostique à condition d'utiliser toujours le même appareillage, la même technique, le même mode de lecture.

Les différences de résultats proviennent surtout :

— D'un auteur à l'autre, des techniques qui sont différentes.

— Chez le même auteur, d'erreurs d'appréciation dans la lecture des courbes.

Les meilleurs résultats seront obtenus par le même opérateur étudiant chez le même sujet la cinétique des constituants sériques.

2° ANIMAUX MALADES.

— *Chien atteint de maladie de Carré :*

Le diagramme électrophorétique nous montre une légère augmentation des γ globulines au détriment des α globulines. Les modifications sont peu nettes et il convient de ne pas retenir le résultat.

— *Chien atteint d'urémie :*

L'électrophorégramme décèle une hypoalbuminémie 31,5 % au lieu de 39 %, une hypoglobulinémie β 18,2 % au lieu de 30,3 % et une hyperglobulinémie γ 38,2 % au lieu de 22,5 % pour l'animal sain. Les mêmes résultats sont signalés chez l'homme en ce qui concerne l'hypoalbuminémie et l'hyperglobulinémie γ .

— *Chien atteint de leishmaniose :*

Nous avons déjà signalé que l'électrophorégramme présentait une allure singulière ne caractérisant uniquement que les globulines γ . Ce chien présentait une leishmaniose cliniquement grave et traitée tardivement. L'allure de l'électrophorégramme n'en a malheureusement pas permis la lecture et l'interprétation graphique. Les fractions autres que les γ globulines semblent très faiblement révélées. Nous verrons plus loin cependant que cette nette prépondérance des globulines γ est confirmée par les tests de sérologie non spécifique.

— *Chat ictérique: Cancer du foie :*

La courbe électrophorétique présente de nombreux clochers dans la zone des globulines. Le taux de l'albumine semble très bas, 21,2 %. Celui des globulines α assez élevé, 25 %, de même que celui des globulines γ , 36,9 %. Chez l'homme, les résultats signalés par J.-A. Berger [7] sont quelque peu différents. Dans les cas de cancer du foie avec ictère, la modification essentielle serait l'hyper β globulinémie que l'on ne retrouve pas dans ce cas chez le chat. Cependant, chez l'homme comme chez le chat l'importance des globulines α_2 est à souligner : 13,8 % chez le premier et 22,2 % chez le second.

Néanmoins cette unique expérimentation ne nous permet pas de conclure.

3° ANIMAUX HYPERIMMUNISÉS.

1) *Chien hyperimmunisé contre la maladie de Carré :*

L'électrophorèse permet de déceler au cours de l'immunisation une notable augmentation des γ globulines dont le taux passe de 26,4 % le 2 mars à 38,7 % le 25 mars. Le taux de l'albumine a baissé parallèlement. Le taux des α et β globulines est peu changé. Cependant ces constatations ne nous donnent pas la solution d'un problème qui reste entier en raison de notre ignorance de la nature exacte de la fraction protéique supportant les anticorps anticarré protecteurs.

2) *Chevaux producteurs de sérum antitoxique :*

Aucune conclusion ne peut être tirée de l'examen électrophorétique du sérum de chevaux immunisés contre le tétanos et producteurs de sérum, si ce n'est une augmentation du taux de l'albumine correspondant à une diminution du taux des globulines γ par rapport au cheval normal. Ce résultat est évidemment paradoxal chez des animaux qui, en principe, devraient montrer un taux élevé

de globulines γ . Néanmoins nos examens semblent concordants entre eux et avec la sérologie non spécifique (cf. ci-dessous). Il reste également à évoquer une fois encore, l'imprécision du concept « sérum de cheval normal ».

3) Chevaux producteurs de sérum antimicrobien :

Il est intéressant de comparer les différents taux des globulines et albumine entre les deux chevaux hyperimmunisés contre le rouget du porc. Le taux des albumines est plus élevé chez le cheval « Hâbleur » (38 %) que chez le cheval « Homard » (32 %). Les deux animaux présentent le même taux pour les globulines α . Le taux des globulines β est plus important de 3 % chez le cheval « Homard ».

La plus grande différence réside dans les proportions respectives des globulines γ : 29,5 % chez le cheval « Hâbleur », 33 % chez le cheval « Homard ».

Les titrages biologiques effectués par le laboratoire confirment cette différence entre les deux chevaux. Le sérum du cheval « Homard » titrait plus de 200 unités souris, le cheval « Hâbleur » au contraire, beaucoup plus pauvre en globulines γ , possédait un sérum titrant seulement entre 100 et 150 unités souris. Nous verrons dans le chapitre suivant les comparaisons que l'on peut faire avec les tests de sérologie non spécifique et les conclusions que l'on peut en tirer.

CHAPITRE II

COMPARAISON DES RESULTATS DE L'ELECTROPHORESE SUR PAPIER ET DE CEUX DES TESTS DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

1° ANIMAUX MALADES :

— Chien atteint de maladie de Carré :

Les résultats des tests de sérologie non spécifique, de même que l'électrophorégramme sont identiques à ceux de l'animal sain. Nous ne retiendrons donc pas les résultats. Ces méthodes ne peuvent servir en rien au diagnostic de la maladie.

— Chien atteint d'urémie :

La séroformogélification, le test de Gros, la réaction de Mac Lagan et celle de Hanger sont négatives, c'est-à-dire qu'elles ne décèlent aucune variation dans la composition du sérum. La réaction de Wunderly est normale ainsi que la sédimentation globulaire.

La bande de coagulation de Weltmann est rétrécie au point que la coagulation n'a pu se produire. Ce qui traduirait une hypoglobulinémie γ coïncidant avec une hypoglobulinémie α .

La fiche réticuloendothéliale nous révèle une hyper α globulinémie, la courbe étant déplacée vers l'acidité.

Les résultats ne sont pas entièrement concordants avec l'électrophorégramme qui décèle une hyper γ globulinémie, une hyper α globulinémie et une hypo β globulinémie.

Les tests de sérologie non spécifique ne peuvent déceler l'hypoalbuminémie caractéristique.

— *Chien atteint de leishmaniose :*

Malgré l'allure surprenante de l'électrophorégramme, il faut considérer que les tests de sérologie non spécifique sont absolument concordants en ce qui concerne le taux très élevé de globulines γ dans ce sérum.

L'augmentation des globulines γ est décelée par :

— la séroformogélification fortement positive ;

— la bande de coagulation de Weltmann qui est très élargie : les 11 tubes sont coagulés ;

— la fiche réticulo-endothéliale dont la courbe de précipitation est déplacée vers l'alcalinité avec un maximum pour un pH de 6,20.

On pourrait y inclure la réaction de Mac Lagan puisque pour certains auteurs elle traduirait une hyper γ globulinémie.

Bien entendu un cas isolé ne permet pas de conclure, mais il faut remarquer que depuis longtemps la réaction de la formogélification est utilisée en clinique pour le diagnostic et le pronostic de la leishmaniose.

— *Chat ictérique. Cancer du foie :*

Une réaction de Gros très positive traduirait une augmentation des γ globulines ; mais la bande de coagulation de Weltmann où aucun tube n'est coagulé serait symptomatique d'une hypo γ globulinémie, ce qui est contraire aux données classiques concernant les états d'insuffisance hépatique.

Par contre, la fiche réticulo-endothéliale dont la courbe est légèrement déviée vers l'alcalinité objective une prépondérance des globulines γ par rapport aux β et aux α .

D'après l'électrophorégramme, s'il existe bien une prépondérance des γ globulines, les α ne seraient pas pour

autant réduites (25 %), ce qui concorde d'ailleurs avec les données de pathologie humaine (prépondérance des globulines α_2).

La discordance est importante en ce qui concerne le résultat de la bande de coagulation de Weltmann.

2° ANIMAUX HYPERIMMUNISÉS.

— *Chien hyperimmunisé contre la maladie de Carré :*

Les résultats des tests de sérologie non spécifique sont identiques à ceux d'un animal normal. Et il est très difficile dans ce cas de donner une interprétation à la légère augmentation du taux des globulines γ décelée par l'électrophorégramme au cours de l'hyperimmunisation.

— *Chevaux producteurs de sérum antitoxique :*

Les tests de sérologie non spécifique, de même que l'électrophorèse sur papier ne révèlent aucune modification dans les sérums.

— *Chevaux producteurs de sérum antimicrobien :*

En matière de sérologie non spécifique, l'importance du taux des γ globulines décelé est remarquable — pour les deux chevaux la bande de coagulation de Weltmann est élargie jusqu'au tube n° 7.

La courbe de la fiche réticuloendothéliale est reportée en zone alcaline. La courbe établie avec le cheval « Homard » était augmentée en valeur du fait de la plus grande quantité de globulines γ précipitées par rapport à celle du cheval « Hâbleur ». Ce fait est confirmé par l'électrophorégramme (33 % de globulines chez le cheval « Homard », 29,5 % chez le cheval « Hâbleur »). Les résultats du titrage biologique de ces deux sérums correspondaient à ceux fournis par la fiche réticuloendothéliale et par l'électrophorèse.

La concordance des tests physico-chimiques de diverse

nature et du titrage biologique est à souligner. Ceci permet de suggérer sinon le remplacement de ces méthodes l'une par l'autre dans le sens de l'économie et de la rapidité, du moins de considérer la sérologie non spécifique comme un test pilote de « dégrossissage » précédant le titrage biologique.

CHAPITRE III

ESSAI DE MISE EN DIAGRAMME DES TESTS DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE

En nous inspirant des diagrammes mis au point par Jayle [18] nous avons essayé de traduire par un graphique les modifications des albumines et globulines révélées par les tests de sérologie non spécifique.

Dans les colonnes verticales sont consignés les résultats globaux, les taux d'albumine et de globulines α , β et γ . Pour établir le tracé de la formule protéique, on joint par un trait continu les valeurs relatives des différents composants.

Les discordances entre les différents tests seront marquées en traits espacés sur les figures 11 à 21 au chapitre « diagramme récapitulatif ».

CHAPITRE IV

MISE EN TABLEAUX SYNOPTIQUES DES RESULTATS COMPARATIFS ENTRE LES TESTS DE SEROLOGIE NON SPECIFIQUE ET L'ELECTROPHORESE SUR PAPIER

Ces divers résultats ont été condensés dans un tableau synoptique donnant approximativement les correspondances pour le taux des albumines, globulines α , β et γ des sérums expertisés entre :

1° Les méthodes de sérologie non spécifique donnant les formules colloïdochimiques du sérum (séroformogélification, test de Gros, Mac Lagan, Hanger, Weltmann, Whurmann, fiche réticuloendothéliale et vitesse de sédimentation globulaire) ; avec les résultats globaux et l'interprétation qualitative approximative des albumines et des trois catégories de globulines ; de ces résultats on en a déduit, comme il a été précédemment expliqué, un diagramme récapitulatif.

2° La méthode de microélectrophorèse sur papier comportant :

a) l'électrophorégramme sur papier obtenu avec l'appareil de M. Barrat ;

b) l'interprétation graphique après passage au lecteur de bande Barrat ;

c) l'interprétation quantitative par numération des carreaux après construction.

Fig. 11 - Serum de CHIEN sain (Moyenne sur 6 serums)

Tests	Resultat global	Interprétation qualitative approximative			
		Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
Séro-formogel	0	?	?	?	pas d'augment.
Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?
Hengel	0	?	pas de diminution	?	pas d'augment.
Weltmann	norm.	?	pas de variation	?	pas de variation
Wunderly	norm.	?	?	?	pas d'augment.
V. ser. gl.	norm.	?	?	?	?
F.R.S. Sanior-Vargues	pH = 4,9	?	norm.	norm.	norm.
Diagramme récapitulatif		?			

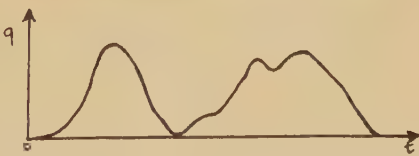
Micro Electrophorèse sur papier (Interprétation quantitative par numération des carreaux après construction).	Electrophoregramme sur papier				
	Interprétation graphique (après passage au lecteur de bandes)				
	Interprétation en %	59 %	8,2 %	30,3 %	22,5 %

Fig.12 - Sérum de CHEVAL sain (moyenne sur 8 sérums)

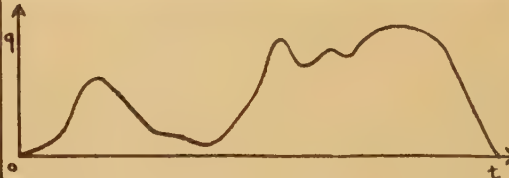
Sérologie non spécifique (Formules colloïdochimiques du sérum)	Tests	Résultat	Interprétation qualitative approximative			
		global	Albumine	Globuline.	Globuline	Globuline
				α	β	γ
	Sero-formogel	0	?	?	?	pas d'augment.
	Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
	Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?
	Hanger	0	?	pas de diminution	?	pas d'augment.
	Weltmann	n° 5	?	pas de variation	?	pas de variation
	Wunderly	norm.	?	?	?	pas d'augment.
	V. Sed. Glob.	norm.	?	?	?	?
F.R.E. Sandor-Vargues	pH = 4,60	?	norm.	norm.	norm.	
Diagramme récapitulatif		?				
Micro électrophorèse sur papier (Interprétation quantitative par numération des carreaux après construction).	Electrophoregramme sur papier					
	Interprétation graphique après passage au lecteur de bandes.					
	Interprétation en %		15 %	5,1 %	21,9 %	58 %

Fig.13 - Sérum de BOVIN sain (moyenne sur 5 sérums)

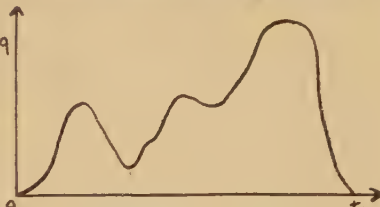
Sérologie non spécifique (Formules colloïdochimiques du sérum)	Tests	Résultat global	Interprétation qualitative approximative			
			Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
	Sero-formogel	0	?	?	?	Pas d'augment.
	Gros	0	?	?	?	Pas d'augment.
	Mac Lagen	0	?	?	Pas d'augment.	?
	Banger	0	?	Pas de diminution	?	Pas d'augment.
	Waltmann	n° 5	?	Pas de variation	?	Pas de variation
	Wunderly	normale	?	?	?	Pas d'augment.
	V.sed.glob.	normale	?	?	?	?
	P.R.E. Sanior-Vargues	pH=4,15	?	norm.	norm.	norm.
Diagramme récapitulatif						
acroelectrophorèse sur papier (interprétation quantitative par numération des carrés après construction).	Electrophorégramme sur papier					
	Interprétation graphique (après passage au lecteur de bandes)					
	Interprétation en		15,4 %	$\alpha 1 = 6,6 \%$ $\alpha 2 = 13,5 \%$	19,7 %	14,6 %

Fig. 14 - Serum de PORC sain (moyenne sur 4 sérums)

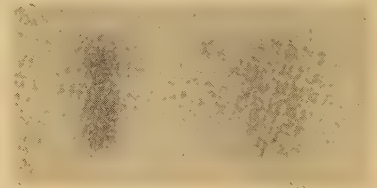
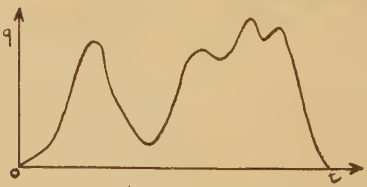
	Tests	Résultat global	Interprétation qualitative approximative			
			Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
Sérologie non spécifique (Réactions colloïdochimiques du serum)	Séro-formogel	0	?	?	?	pas d'augment.
	Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
	Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?
	Hanger	0	?	pas de diminution	?	pas d'augment.
	Weltmann	n° 0	?	pas de variation		pas de variation
	Wunderly	normal	?	?	?	pas d'augment.
	V.sed.glob.	normal	?	?	?	?
	F.R.E. Sandoz-Vargues	pH=4,60	?	norm.	norm.	norm.
	Diagramme récapitulatif		?			
Microélectrophorèse sur papier (Interprétation quantitative par numération des carreaux après construction.)	Electrophorégramme sur papier					
	Interprétation graphique (après passage au lecteur de bandes)					
	Interprétation en %		30,5 %	α 1=7,0 % α 2=15,2 %	19,3 %	27,4 %

Fig 15 .- Serum de CHIEN atteint de Maladie de Carré

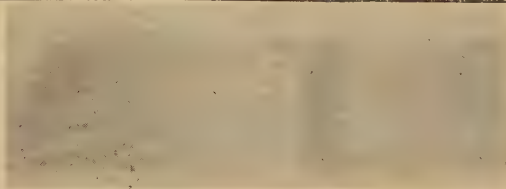
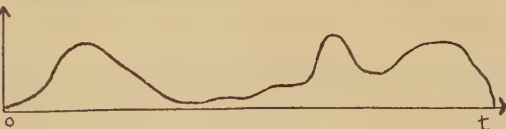
Serologie non spécifique (Formules colloïdochimiques du sérum)	Tests	Résultat global	Interprétation qualitative approximative			
			Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
	Sero-formogel	0	?	?	?	pas d'augment.
	Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
	Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?
	Hanger	0	?	pas de diminution	?	pas d'augment.
	Weltmann	n° 2	?	pas de variation	?	pas de variation
	Wunderly	normale	?	?	?	pas d'augment.
	V.sed.glob.	normale	?	?	?	?
	F.R.E. Sander-Vargues	pH = 4,90	?	norm.	norm.	norm.
Diagramme récapitulatif		?				
Microélectrophorèse sur papier (interprétation quantitative par numération des carreaux après construction).	Electrophorégramme sur papier.					
	Interprétation graphique (après passage au lecteur de bandes)					
	Interprétation en %		45,1 %	α 5,3 % α 1 1 % α 2 4,3 %	15 %	34,6 %

Fig 16 CHIEN atteint de Leishmaniose

	Tests	Résultat	Interprétation qualitative approximative			
		global	Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
Sérologie non spécifique (formules colloïdochimiques du serum)	Sero-formogel	++	?	?	?	forte augment.
	Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
	Mac Lagan	++	?	?	augmentat.	?
	Hanger	0	?	pas de diminution	?	pas d'augment.
	Weltmann	n° II	?	diminution	?	forte augment.
	Wunderly	normale	?	?	?	pas d'augment.
	Vit.sed.glob.	normale	?	?	?	?
	F.R.E. Sander-Vargues	pH=6,2	?	, orn.	norm.	hyper γ
Diagramme récapitulatif			?			
Microélectrophorèse sur papier	Electrophoregramme sur papier					

Fig. 17 CHLOR atteint d'urémie

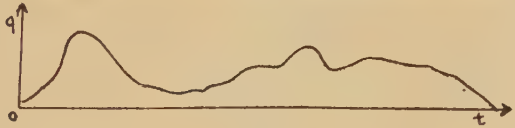
	Tests	Résultat global	Interprétation qualitative approximative			
			Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline δ
Sérologie non spécifique (formules colloïdochimiques du serum)	Sero-formogel	0	?	?	?	pas d'augment.
	Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
	Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?
	Hanger	0	?	pas de diminution	?	pas d'augment.
	Weitmann	n° 0	?	diminution	?	diminution
	Wunderly	normale	?	?	?	pas d'augment.
	V. sed. glob.	normale	?	?	?	?
	F.R.E. Sandoz-Vergues	Hyper α	?	Hyper α	norm	norm.
	Diagramme récapitulatif		?			
Microélectrophorèse sur papier (Interprétation quantitative par numération des carreaux après construction).	Electrophoregramme sur papier.					
	Interprétation graphique (après passage au lecteur de bandes)					
	Interprétation en %		31,5 %	12,1 % 1 = 2,1 % 2 = 10 %	18,2 %	38,2 %

Fig. 18. CHAT atteint de Cancer hépatique

Tests	Résultat global	Interprétation approximative qualitative			
		Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
Sero-formogel	0	?	?	?	d'augment. pas
Gros	++	?	?	?	augmentat.
Mac Lagen	0	?	?	pas d'augment.	?
Hanger	0	?	pas de diminution	?	d'augment. pas
Weltmann	n° 0	?	diminution	?	diminution
Wunderly	normale	?	?	?	d'augment. pas
V.sed. glob.	normale	?	?	?	?
F.R.E. Sander-Vargues	pH = 6,3	?	diminution	diminution	norm.
Diagramme récapitulatif		?			

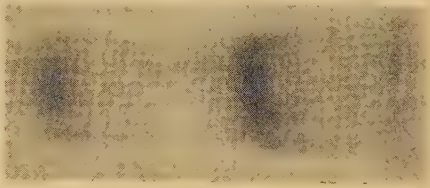
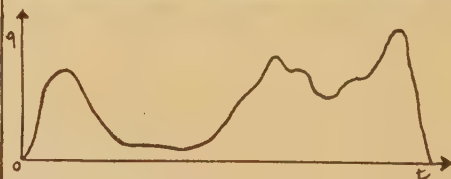
Micro électrophorèse sur papier	Electrophorégramme sur papier				
	Interprétation graphique après passage au lecteur de bandes				
	Interprétation en %	21,2 %	25,4 % $\alpha_1 = 3,2 \%$ $\alpha_2 = 22,2 \%$	16,5 %	36,9 %

Fig.19. CHEVAUX donneurs de serum antitétanique

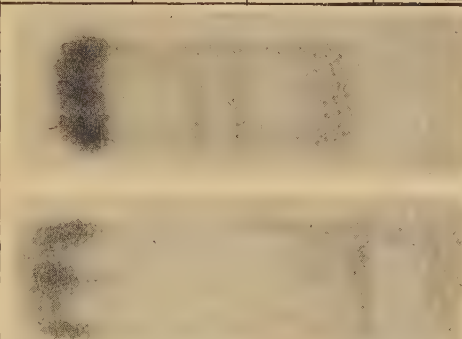
Sérologie non spécifique (Formules colloïdochimiques du serum)	Tests	Résultat global	Interprétation qualitative approximative				
			Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ	
	Sero-formogel	0	?	?	?	pas d'augm.	
	Gros	0	?	?	?	pas d'augm.	
	Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?	
	Hanger	0	?	pas de variation	?	pas de variation	
	Weltmann	n° 7	?	diminution	?	augmentat.	
	Wunderly	norm.	?	?	?	pas d'augm.	
	V.sed.glob.	norm.	?	?	?	?	
	F.R.E. Sander-Vargues	pH = 4,6	?	norm.	norm.	augmentat.	
Diagramme récapitulatif		?					
Micro électrophorèse sur papier	Electrophoregramme sur papier						
	I						
	II						
	Interprétation en %		I	48 %	13 %	13 %	26 %
			II	46 %	13,5 %	16 %	24,5 %

Fig.20 - CHEVAUX donneurs de serum antirouget

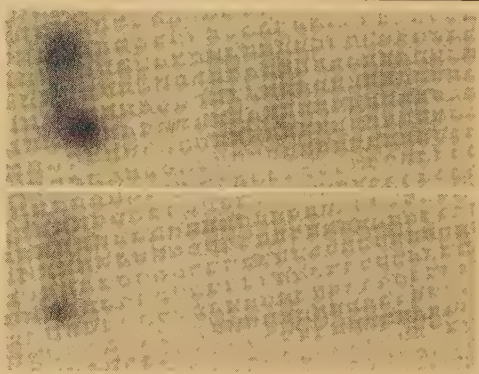
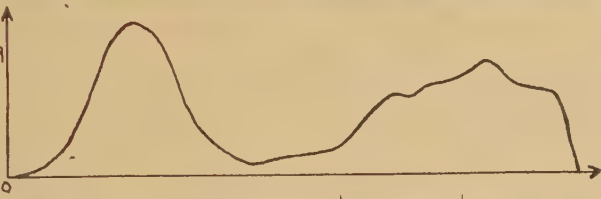
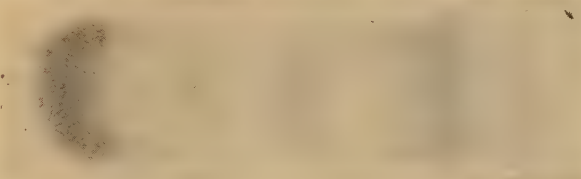
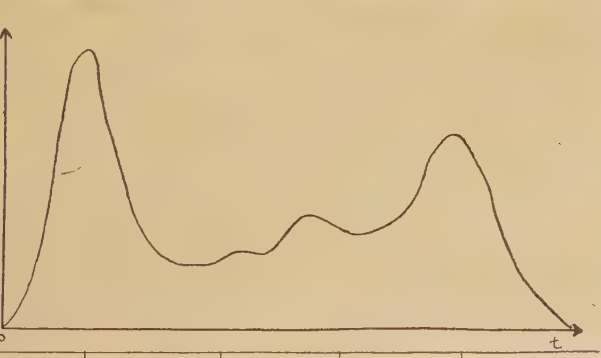
Sérologie non spécifique (formules colloïdchimiques du serum)	Tests	Résultat global	Interprétation qualitative approximative			
			Albumine	Globuline α	Globuline β	Globuline γ
	Sero-formogel	0.	?	?	?	pas d'aug.
	Gros	0	?	?	?	pas d'aug.
	Mac Lagan	0	?	?	pas d'aug.	?
	Hanger	0	?	pas de variation	?	pas de variation
	Weltmann	n° 7.	?	diminution	?	augmentat.
	Wunderly	norm.	?	?	?	pas d'augm.
	Vit.sed.glob.	norm.	?	?	?	?
	F.R.E. Sandor-Vargues	pH = 6,1	?	norm.	norm.	augmentat.
Diagramme récapitulatif						
Micro électrophorèse sur papier	Electrophoregrammes sur papier					
	Interprétation en % Hableur Homard		38 % 32 %	16,5 % 16 %	16 % 19 %	29,5 % 33 %

Fig.21 Serum de CHIEN donneur de serum anti Maladie de Carré

Test	Résultat global	Interprétation qualitative approximative			
		Albumine	Globuline	Globuline	Globuline
Sero-formogel	0	?	?	?	pas d'augment.
Gros	0	?	?	?	pas d'augment.
Mac Lagan	0	?	?	pas d'augment.	?
Hanger	0	?	pas de variation	?	pas de variation
Weltmann	n° 2	?	pas de variation	?	pas de variation
Wunderly	norm.	?	?	?	pas d'augment.
Vit.Sed.glob.	norm.	?	?	?	
F.R.E. Sandor-Vargues	pH=4,90	?	norm.	norm.	norm.
Diagramme récapitulatif		?			

I. Micro-électrophorégramme					
	Interprétation graph. 				
II. Micro-électrophorégramme					
	Interprétation graph. 				
	I)	49,5 %	7,3 %	16,8 %	26,4 %
	2)	40,6 %	8,2 %	12,5 %	38,7 %
I) Prélèvement du 2 Mars 2) Prélèvement du 25 Mars					

Microélectrophorèse sur papier
(Interprétation quantitative par numération des
carréaux après construction).

Sérologie non spécifique
(Formules colloïdochimiques du serum)

CONCLUSIONS

I. — L'étude électrophorétique de quelques sérums d'animaux sains, malades ou hyperimmunisés, a été effectuée pour contrôler les résultats obtenus à l'aide des techniques de sérologie non spécifique (vitesse de sédimentation globulaire, fiche réticulo-endothéliale, réaction de Whurmann et Wunderly, de Gros, de Hanger, de Mac Lagan ; bande de coagulation de Weltmann et séro-formogélification). L'étude des glucides et des lipides sériques n'a pas été envisagée.

L'appareil utilisé a été celui mis au point par M. Barrat (Laboratoire Biolyon, Directeur Docteur Joud). Les lectures des électrophorégrammes ont été faites au lecteur de bande et le calcul des pourcentages de constituants faits par numération de carreaux après construction des courbes sur papier millimétré.

II. — Les diagrammes des différents constituants sériques protidiques des sérums des *animaux sains* ont été d'abord établis. De larges oscillations ont pu y être décelées dans les limites qui nous paraissent physiologiques.

Néanmoins on peut établir en moyenne les formules suivantes :

	A	G α	G β	G γ
Cheval	15 %	5,1 %	21,9 %	58 %
Bœuf	15,4 %	20,4 %	19,7 %	44,6 %
Porc	30,5 %	22,8 %	19,3 %	27,4 %
Chien	39 %	8,2 %	30,3 %	22,5 %

Par comparaison avec l'homme :

A	G α	G β	G γ
61 %	12,5 %	12,5 %	14 %
± 3	± 2	± 2	± 2

III. — Les électrophorégrammes de sérums d'animaux malades nous ont en général montré qu'ils étaient quelquefois en accord avec les données de la sérologie non spécifique (leishmaniose du chien), quelquefois en désaccord avec les données de la sérologie non spécifique (urémie chez un chien, ictère chez un chat) ; quelquefois sans signification, de même que la sérologie non spécifique (maladie de Carré chez le chien).

IV. — Les électrophorégrammes de sérums d'animaux hyperimmunisés n'ont fourni des résultats intéressants que dans le cas de sérum antimicrobien (sérum de cheval antirouget), où l'on constate en complet accord avec les tests de la sérologie non spécifique et des tests de séroprotection *in vivo*, un accroissement des globulines sériques.

V. — L'électrophorèse sur papier est donc une méthode d'exploration sérique fine oscillant cependant entre des limites physiologiques déjà très larges. Les valeurs des divers constituants sériques qu'elle détermine ne peuvent être retenues que si elles ont été obtenues dans des conditions absolument comparables d'appareillage et de technique, particulièrement de lecture. La valeur diagnostique de la méthode cède donc le pas à la valeur pronostique (cinétique des variations).

Néanmoins de grands services peuvent être rendus par cette méthode dans certains cas pathologiques et aussi en immunologie, d'autant qu'elle assure un contrôle précis des tests de sérologie non spécifique couramment utilisés en clinique et incapables d'explorer chacun les divers secteurs protéiques du sérum.

Vu : LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
GORET.

Vu : LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
JUNG.

Vu :
LE DOYEN
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,
A.-H. HERMANN.

Vu :
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE
SEDALLIAN.
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 16 Mars 1955.
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARBOUYS, FINE, EYQUEM. — *Ann. Inst. Past.*, 1954, 87, 170.
2. ARDRY R. — *Ann. Biol. Clin.*, 1952, 10, 575.
3. BENHAMOU E., AMOUCH P., CHEMLA Ed. — *Presse Méd.*, 1953, 82, 17.
4. BENHAMOU E., PUGLIESE J., CHICHE J.-C., AMOUCH P. — *Presse Méd.*, 1954, 62, 651.
5. BENHAMOU E., PUGLIESE J., GRIGNER P., AMOUCH P. — *Presse Méd.*, 1954, 62, 1.513.
6. BENNHOLD H. — *Med. Klinik.*, 1954, 49, 8.
7. BERGER J.-A. — Contribution à l'étude des protéines du sérum sanguin. *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Toulouse, 1953. Ed. Imprimerie Moderne, Clermont-Ferrant.
8. CARAVEL, DUCLOZ J., GROULADE J. — *Ann. Inst. Past.*, 1954, 87, 227.
9. DONZELOT E., KAUFMANN, LE BOZEC, DE MENDE. — *Sem. des Hôp.*, 1953, 29, 1.533.
10. DREVON B. — *Biol. Méd.*, 1953, 42, 282.
11. GLEASON, FRIEDBERG. — *Physiol. Zool.*, 1953, 26, 95.
12. FINE J.-M., Mme VINÇON-ALRIQ, EYQUEM A. et GROULADE J. — *Presse Méd.*, 1954, 62, 1.043.
13. GROULADE P. et GROULADE J. — *Ann. Inst. Past.*, 1953, 85, 508.
14. GROULADE J., DRIEUX H., GROULADE P., DRUFOVKA. — *Rev. Path. Gén. et Comp.*, 1954, 54.
15. HIRTZ. — *Thèse Doctorat ès-Sciences*, L'électrophorèse. Lyon, 1953.
16. HIRTZ. — *Rev. d'Imm.*, 1952, 16, 397.
17. HOCH H., CHANUTIN A. — *J. Biol. Chem.*, 1953, 200, 241.
18. JAYLE et BADIN. — *Presse Méd.*, 1953, 61, 343.
19. JEAN R. — *Presse Méd.*, 1953, 61, 828.
20. KAUFMANN. — *Presse Méd.*, 1954, 62, 319.
21. LAPEYSSONIE. — *Presse Méd.*, 1954, 62.
22. LE GALL, SICA, VIOLLIER. — *Sté de Patho. Exot.*, déc. 1953.

23. LEVER, SCHULTZ, HURLEY. — *Arch. Dermat. and Siphylol.*, 1951, 63, 702.
24. MACHEBŒUF, REBEYROTTE, BRUNERIE M. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1951, 33, 1.543.
25. MERIEL P., RUFFIE R., SARDON M., FOURNIE M. et FOURNIE A. — *Presse Méd.*, 1954, 62, 1.907.
26. MICAL R. — Quelques applications de la sérologie non spécifique en médecine vétérinaire. *Thèse Doctorat Vétérinaire*, Lyon, 1954. Bosc. éditeur.
27. NIKKILA, HAAHTI et PESOLA. — *Acta Chem. Scand.*, 1953, 7, 1.222.
28. POLSON A. et MALHERBE. — *The Onder. Journ. of Veter. Res.*, 1952, 25, 13.
29. RAFSKY H.-A., BRILL A., STERN K., COREY H. — *Amer. Journ. Med. Sci.*, 1952, 224, 522.
30. ROMANI J.-D. — *Presse Méd.*, 1954, 62, 1.578.
31. RAYNAUD R., D'ESHOUGUES, VARGUES, PASQUET. — *Presse Méd.*, févr. 1953.
32. ROTTGER H. — *Naturwissenschaften*, 1952, 39, 451.
33. SANDOR (Mlle) Y., LE BOT, SABATAN Y. — *Ann. Inst. Past.*, 1953, 85, 645.
34. SLICZEWICZ et ATANAZIU P. — *Ann. Inst. Past.*, 1953, 85, 505.
35. SONNET et RODHAIN. — *Rev. Belge Path. Méd. Exp.*, 1953, 23, 4.
36. TAPERNOUX A., MAGAT A. et Mlle M. GONNET. — *Rev. Méd. Vét.*, 1954, 35, 402.
37. VARGUES R. et Mlle S. LABROSSE. — *Ann. Inst. Past.*, 1955, 88.
38. WENZEL M. HANSON. — *Hoppe Seyler's Zeilschr. Phys. Chem.*, 1953, 292, 137.
39. WIEME R.-J. — *Experientia*, 1953, 9, 380.
40. WESSELMANN E., EWERBECK H. — *Monat. fur Kunderheilkunde*, 1954, 102, 188.
41. WUNDERLY. — *Exp. Ann. Biol. Méd.*, 1952, 14, 87.
41. YOSHIDA. — *Tohoku J. Exp. Méd.*, 1953, 57, 205.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	9
PREMIÈRE PARTIE. — Les constituants normaux colloï- daux du plasma et du sérum.	
<i>Chapitre I.</i> — Protéines plasmatiques et sériques	11
<i>Chapitre II.</i> — Tests sérologiques non spécifiques.	20
<i>Chapitre III.</i> — Méthodes de fractionnement des protéines plasmatiques	22
DEUXIÈME PARTIE. — L'Electrophorèse des protides du sérum en général. Principe. Techniques.	
<i>Chapitre I.</i> — (L'Electrophorèse classique ou de frontière	29
<i>Chapitre II.</i> — Microélectrophorèse sur papier ou de zone	33
<i>Chapitre III.</i> — Valeur comparée des deux méthodes	41
TROISIÈME PARTIE. — Applications et résultats de l'Elec- trophorèse des protides du sérum de quelques ani- maux sains, malades ou hyperimmunisés.	
I. — Travaux antérieurs	43
II. — Recherches personnelles	47
QUATRIÈME PARTIE. — Discussion des résultats. Compa- raison avec les tests de sérologie non spécifique.	
<i>Chapitre I.</i> — Discussion des résultats obtenus par l'électrophorèse	53
<i>Chapitre II.</i> — Comparaison des résultats obtenus à l'aide de l'électrophorèse sur papier avec les tests de sérologie non spécifique	58
<i>Chapitre III.</i> — Essai de mise en diagramme des tests de sérologie non spécifique	62
<i>Chapitre IV.</i> — Graphiques synoptiques des résul- tats	63
CONCLUSIONS	75
BIBLIOGRAPHIE	79

